Die Regulation des osmotischen Druckes in Meeresalgen bei Schwankungen des Salzgehaltes im Aussenmedium.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Facultät

der

Universität zu Rostock.

Vorgelegt von

Paul Drevs

aus Elmenhorst b. Warnemünde.

Separat-Abdruck
aus »Archiv d. V. d. Freunde der Naturgeschichte in Mecklbg«.
49. Jahr.

GÜSTROW.
Rathsbuchdruckerei C. Michaal & A. Schuster.
1895.

Die Regulation des osmotischen Druckes in Meeresalgen bei Schwankungen des Salzgehaltes im Aussenmedium.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Facultät

der

Universität zu Rostock.

Vorgelegt von

Paul Drevs

aus Elmenhorst b. Warnemünde.

Separat-Abdruck
aus »Archiv d. V. d. Freunde der Naturgeschichte in Mecklbg«.
49. Jahr.

GÜSTROW.
Rathsbuchdruckerei C. Michaal & A. Schuster.
1895.

Referent: Professor Dr. Falkenberg.

Seinen teuren Eltern

in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553619_0010

Die Regulation des osmotischen Druckes in Meeresalgen bei Schwankungen des Salzgehaltes im Aussenmedium.

Von **Paul Drevs.**

Inhalt:

Einleitung.

Steigerungsversuche.

Herstellung der konzentrierten Kulturflüssigkeiten.

a) Durch Ausfrieren lassen von Seewasser. Successive Steigerung der Algen durch Uebertragen derselben in Medien, die um 0,5 % Salzgehalt differieren und aus solchem konzentrierten Seewasser hergestellt sind.
b) Steigerung des Salzgehaltes durch freiwillige Verdunstung.
c) Steigerung durch langsames Einfliessen des stärkeren Mediums mittelst Capillare.
d) Steigerung durch allmähliches Auflösen von Salz in Substanz.

Morphologische Differenzen beim Wachsthum in höheren Conzentrationen.

Einfluss der Zeit, in welcher sich die Substratssteigerung vollzieht, auf die Regulation.

Direktes Ausfrierenlassen der Kulturen bis zu eintretender Plasmolyse. Rückgang der Plasmolyse.
Plasmolytische Versuche an Rhodophyceen.

Verhalten des Ueberdruckes zur Conzentrationssteigerung. Ueberdruckskonstante.

A. Findet Regulation durch Umwandlung fester Assimilate in osmotisch wirksame Stoffe statt?

1) Entfernung der Assimilate durch Aushungern des Materials und Steigerungsversuche mit ausgehungertem Material.

2) Findet Rückbildung von Assimilaten statt, wenn gesteigertes Material in niedere Conzentrationen übertragen wird?

3) Geschieht die Herstellung osmotischer Druckkräfte durch Oxydation der Stärke zu Oxalsäure, Aepfelsäure, Weinsäure? Chemische Untersuchung auf diese Pflanzensäuren, sowie auf Glykose.

B. Die Regulation beruht nicht auf Umwandlung fester Reservestoffe, sondern auf Permeabilität des Protoplasten. Beweise durch mikro- und makrochemische Untersuchungen über den Mehrgehalt von Kochsalz im Zellsaft gesteigerten Materials.

Das dem Kochsalz analoge Verhalten von Bromkalium.

Durch welche Stoffe wird der Ueberdruck bedingt?

Kulturversuche von Bohnenkeimlingen in verschiedenen Substraten.

Quantitative Untersuchungen über die Aufnahme von Salz aus dem Substrat.

Zusammenfassung der Resultate.

Einleitung.

Der Salzgehalt der offenen Meere ist ein ziemlich constanter; er unterliegt Schwankungen, welche 0,1 % innerhalb 24 Stunden selten überschreiten. Ein anderes Bild bietet uns in dieser Beziehung die Ostsee mit ihren haffartigen Küstenseen. Hier wurde häufig ein Wechsel des Salzgehaltes um 0,7 % in verhältnismässig kurzer Zeit beobachtet. Es liegt auf der Hand, dass ein solcher Conzentrationswechsel nicht ohne Einfluss auf das pflanzliche Leben in diesen Gewässern sein kann. Mit der Erhöhung des Salzgehaltes um beispielsweise 0,7 % wird die osmotische Leistung des Substrates um 4,1 Atmosphären gesteigert.)[1] Diese Steigerung des Druckes im Aussenmedium muss eine Störung der Turgescenzverhältnisse der Pflanzen verursachen, welche auf irgend eine Weise beseitigt werden muss. Die Thatsachen beweisen, dass Pflanzen der Adaption an recht hohe Conzentrationen fähig sind. Bietet doch das Gedeihen niederer Organismen in Lösungen von teilweise osmotisch ausserordentlich hochwertigen Substraten nichts neues.

Aspergillus wächst noch auf Lösungen bis zu 230 % Zucker. Ueber das Vorkommen grüner Algen im grossen Salzsee von Amerika mit 20 % Salzgehalt, sowie im toten Meere mit einem Gehalt von 24 % Chlor- und Bromsalzen ist häufig berichtet worden.

Eschenhagen[2]) hat für verschiedene Pilze ein Wachstum in Conzentrationen bis zu 17 und 18 % Na Cl nachgewiesen.

Stange[3]) fand in einem Salinenwasser, das durch Abdunstung von 9,4 auf 17,8 Na Cl conzentriert war, Chlamydomonas marina und eine Diatomeengattung in lebhafter Entwickelung. Auch eine Beobachtung, welche Falkenberg in Neapel machte, gehört hierher.

Derselbe fand, dass mit wenig Wasser eingesammeltes Algenmaterial, welches er zur besseren Conservierung mit

---

[1]) Pfeffer »Osmotische Untersuchungen« und Studien über die Plasmahaut. 1890.

[2]) Eschenhagen »Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Conzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen.

[3]) Stange »Beziehungen zwischen Substratconzentration. Turgor und Wachstum bei einigen phanerogamen Pflanzen«. (Botan. Zeitung 1892 No. 16—27.)

Salz bestreut hatte, auf's freudigste vegetierte, obgleich der Boden des Gefässes noch theilweise mit Salz bedeckt war. Alle diese Beispiele zeigen zur Genüge die Thatsache eines hohen Anpassungsvermögens. Dass die Adaption nicht nur an sehr hohe Conzentrationen erfolgen kann, sondern dass auch die Geschwindigkeit der Anpassung an gesteigerte Druckverhältnisse des Aussenmediums eine ganz ausserordentliche ist, ergaben Versuche Heglers, welche er im hiesigen Institute an Ectocarpus ausführte. Die bei dieser Phaeophycee durch Kochsalzlösung eben bewirkte Plasmolyse ging direct unter dem Mikroskop zurück. Es ist nun bis jetzt noch nicht näher festgestellt, wie weit und wie rasch eine solche Anpassung an hohe Salzwerte gehen kann. An Algen, die hier im Breitling[1]) und der nahen Ostsee vorkommen, suchte ich diese Frage auf experimentellem Wege zu entscheiden. Unentschieden ist vor allen Dingen auch die Physiologie der Regulation selbst, deren Klarlegung mir neben dem Aufsuchen des Grenzwertes der Conzentration den Grund zu meinen Untersuchungen gab.

Steigerungsversuche.

Zur Lösung der ersten Frage benutzte ich den Weg der successiven Conzentrationssteigerung meiner Culturen, indem ich die Versuche auf die verschiedenste Weise variierte. Der einfachste Weg war der, das Versuchsmaterial durch eine Reihe von Medien, die von einander durch einen Mehrgehalt an 0,5 % Na Cl differierten, klettern zu lassen. Als Anfangsmedium diente, den lokalen Verhältnissen entsprechend, für das Material aus dem Breitling die 0,5 %, für das aus der Ostsee die 1 % Conzentration. Als Kulturgefässe benutzte ich Glashäfen von $^1/_2$ bis 1 Liter Inhalt. Durch Ansetzen von je sechs Parallelkulturen einer Conzentrationsstärke wurde Versuchsfehlern, die sich durch auftretende Zufälligkeiten einstellen konnten, vorgebeugt.

Die Kultur der Chlorophyceen im Laboratorium ist nicht gerade mit Schwierigkeiten verknüpft. Bei Anwendung reiner Kulturgefässe, reiner Ingredienzien und Aufstellung an einem hellen Orte dürfte man hier immer

[1]) Confer. Oltmanns »Ueber die Kultur und Lebensbedingungen der Meeresalgen« und Porter »Abhängigkeit der Breitlings- und Unterwarnow-Flora vom Wechsel des Salzgehalts«. Arch. d. V. d. Freunde d. Naturgesch. in Mecklbg. 48, I.

zum Ziele kommen. Anders gestaltet sich das für die viel empfindlicheren, specifischen Meeresformen. Temperatur-, Beleuchtungsverhältnisse und vor allem das als Substrat dienende Wasser sind die Hauptfactoren, auf die man, wenn von einer erfolgreichen Kultur bei Meeresalgen die Rede sein soll, Gewicht zu legen hat. Reinke[1]) und Oltmanns[2]) haben sich auf das Eingehendste mit diesem Studium beschäftigt. Namentlich Letzterer hat es in sehr sinnreicher Weise verstanden durch seine Gelatine-Tuschkeile und den Hydrothermostaten den Beleuchtungs- und Temperaturverhältnissen gerecht zu werden. Ein Hauptmoment bleibt aber immer noch das Substrat.

Herstellung der conzentrierten Kulturflüssigkeiten.

Oltmanns[2]) stellt seine Conzentrationen, teils durch Verdünnen stärkeren Ostseewassers mit destilliertem Wasser, teils durch Mischen von schwachem Ostseewasser mit solchem aus der Norsee her. Die Beschaffung des Nordseewassers hat aber viele Schattenseiten. Abgesehen von den Kosten ist dieselbe mit grossen Umständen verknüpft und bietet nicht die gewünschte Garantie für völlige Reinheit. Im hiesigen Institute wurde häufiger die Erfahrung gemacht, dass das Wasser, anstatt frei aus dem Meere, vermutlich mit Schiffspumpen geschöpft war. Solches Wasser war für die Culturen absolut untauglich, da es ein sehr schnelles Absterben derselben bewirkte. Es ist dieser Umstand jedenfalls zurückzuführen auf geringe Fettaufnahme des Wassers durch Berührung der Pumpentheile.

Es liegt nun nahe durch einfaches Eindampfen oder völliges Verdampfen des Ostseewassers zur Trockne, und Wiederaufnahme des Abdampfrückstandes mit destilliertem Wasser Conzentrationen von beliebiger Stärke herzustellen. Allein diese Operation ist mit einer Zersetzung des Seewassers verbunden. Das Salz ist in destilliertem Wasser nicht mehr völlig löslich, auch nicht beim Durchleiten von Kohlensäure; Seewasser bewirkte allerdings

[1]) Reinke, bot. Institut u. bot. Meeresstation in Kiel. Bot. Centralblatt 1890 No. 1.

[2]) Oltmanns »Ueber die Kultur und Lebensbedingungen der Meeresalgen«. Pringsheims Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Band XXIII Heft 3.

eine allmähliche klare Lösung. In so dargestellten Conzentrationen habe ich mit Erfolg Chlorophyceen cultiviert, Versuche mit spezifischen Meeresalgen versagten aber stets.

Conzentrieren von Seewasser durch Ausfrieren desselben.

Ich folgte deshalb sehr gerne einem Winke Heglers, durch einfaches Ausfrierenlassen von Ostseewasser höhere Conzentrationen zu gewinnen. Diese Methode lieferte tadellose Producte und, da sie im Winter beim natürlichen Frost verhältnismässig leicht, aber auch im Sommer mit Hülfe von Kältemischungen durchführbar ist, so will ich nicht verfehlen derselben einer näheren Beschreibung zu unterziehen.

Ein runder emaillierter Kessel oben und unten gleich weit, wurde fast bis zum Rande mit Seewasser gefüllt und, durch Bedecken gegen mechanische Verunreinigung geschützt, der Frostwirkung ausgesetzt. Kältegrade von 5 bis 10 Grad sind für die Operation die günstigsten. Sehr bald bedecken sich die Gefässwände bis zur halben Höhe, sowie die Oberfläche des Wassers mit Eis. Von Zeit zu Zeit wird die gebildete Decke durchstossen, um möglichst die Mitte von der Eisbildung freizuhalten. Nach zwölfstündiger Wirkung brachte ich den Topf in einen warmen Raum, um das Abtauen von den Gefässwänden zu bewirken. Es war dann ein Leichtes durch Einfassen in die freigebliebene Mitte den Eisklumpen auszuheben. Durch Wiederauffüllen des Gefässes mit Ostseewasser wurde dasselbe von neuem der Frostwirkung ausgesetzt und dieses Experiment so lange wiederholt, bis ich eine Conzentration von 5 % Kochsalz erhielt. Der Salzgehalt steigerte sich meistens nach jedesmaliger Operation um 0,6—1 %. Die absolute Steigerung nahm allerdings proportional der zunehmenden Conzentrationsstärke ab, da die Eisbildung bei stärkerem Salzgehalt eine trägere wird. Noch höher als 5 % auf diesem Wege zu conzentrieren ist nicht zweckmässig, da bei noch weiterem Ausfrieren im Wasser auftretende Trübungen Zersetzung befürchten lassen. Das erhaltene Eis wurde aufgetaut. Das daraus erhaltene Wasser zeigte meistens einen Gehalt von 0,3 bis 0,5 % Salz. Durch Mischen desselben mit dem erhaltenen 5 % Seewasser stellte ich mir meine Kulturflüssigkeiten her.

Höhere Conzentrationen als 5 % bereitete ich durch einfaches Auflösen von reinem käuflichen Kochsalz in Seewasser. Die genaue Einstellung der Lösungen geschah auf zweierlei Weise:

Durch Bestimmung des spec. Gewichtes mit Hülfe der Mohr-Westphahlschen Waage und Berechnung des Salzgehaltes nach den Angaben von Karsten[1]).

Durch Titration des Chlorgehaltes und Berechnung des Gesamtsalzgehaltes daraus durch Multiplikation der gefundenen Chlormenge mit dem Jacob'schen[2]) Chlorcoefficienten 1,81.

Die gefundenen Werte stimmten bis zu Gehalten von 5 % sehr genau überein. Von hier an treten kleine Differenzen zu Gunsten der Titrirmethode auf, über deren Ursache ich nicht klar geworden bin. Für meine Zwecke fallen dieselben indess nicht ins Gewicht.

Successive Steigerung der Algen durch Uebertragen in Medien, die um 0,5 % Salzgehalt differieren.

In die auf solche Weise hergestellten Kulturflüssigkeiten brachte ich meine Algen, indem ich zunächst mit der niedrigsten von 0,5 % bez. 1 % begann, sie nach 24 Stunden in die von 1 % bez. 1,5 % übertrug und so fort. Um den Fehler, der beim Uebertragen des Materials in das Medium mit nächsthöherem Salzgehalt durch anhaftende, alte Kulturflüssigkeit entsteht, zu vermeiden, wurde das Material jedesmal erst mit der neuen Conzentration abgespült.

Meine Resultate waren folgende:

Von den in Arbeit genommenen Chlorophyceen aus dem Breitling brachte ich

Enteromorpha auf die 13 %
Ulva auf die 10 %
Chaetomorpha auf die 6,5 %

Conzentration. Es sind das Substrate, die Aussendrucken von 75, 58, 38 Atmosphären, auf Na Cl berechnet, entsprechen.

Cladophora und Spirogyra brachte ich auf

6 % = 34 Atmosph.
2 % = 11 Atmosph.

---

[1])-Bericht der Commiss. z. Erforschung deutscher Meere I. p. 7.

[2]) O. Jacobsen, d. phys.-chem. Beobachtungen auf der Exped. z. Untersuch. d. Ostsee. Ber. d. Com. II.

Die Werte für Ectocarpus, Polysiphonia, Callithamnium, Delesseria bewegten sich zwischen

$$5—5{,}5\ \% = 29—32\ \text{Atm.},$$

während Melosira bis auf 9 % oder 52 Atm. gebracht wurde.

Es handelt sich bei diesen Werten nur um die momentane Anpassung an diejenige Conzentration, in der das Material innerhalb 24 Stunden nach dem Uebertragen keine sichtbare Schädigung erlitten hatte.

Anders gestaltete sich das Verhältnis bei dauerndem Aufenthalt in diesen Medien nach der raschen Steigerung. Eine längere Beobachtung der Kulturen gab ein wesentlich anderes Bild. Nach vier Wochen vegetierten nur noch die Kulturen bis zu folgenden Salzgehalten:

Enteromorpha	7,5 %
Ulva	6,5 %
Chaetomorpha	4 %
Cladophora	2 %
Spirogyra	1 %

Melosira war dagegen in der anfänglichen Grenzconzentration (9 %) gesund geblieben. Unter den Versuchsobjekten stellte sich die Grenzconzentration am höchsten für Melosira, sehr günstig auch für Ulva und besonders Enteromorpha, namentlich letztere schien sich in den höheren Medien ausserordentlich wohl zu fühlen und besonders geeignet zu sein hohe und rasche Schwankungen im Salzgehalte zu ertragen.

Ich sehe hierin die Bestätigung einer Angabe Oltmanns, der an einem Orte in der Warnow mit raschem Salzwechsel, welcher sonst fast vegetationslos war, mit Enteromorphen bedeckt fand.[1])

Die Meeresalgen waren in sämtlichen Conzentrationen abgestorben. Dieser Misserfolg lässt jedoch nicht ohne weiteres den Schluss zu, dass diese Pflanzen ungeeignet seien, sich einem höheren Salzgehalt anzupassen. Die durch das tägliche Uebertragen in neue Medien herbeigeführten Beleuchtungsveränderungen tragen wohl im wesentlichen die Schuld an dem ungünstigen Resultate, welches ich mit diesem Material hatte.

[1]) Oltmanns »Ueb. d. Kult. u. Leb.-Bed. d. Meeresalgen« Seite 53.

Steigerung des Salzgehaltes durch freiwillige Verdunstung.

Ich versuchte deshalb auf andere Weise zum Ziele zu kommen.

Die Conzentration durch freiwillige Verdunstung hilft zwar dem Uebelstande der täglichen Beleuchtungsveränderung ab, bietet aber wegen der Langsamkeit ihres Verlaufes und der leichten Bakterieninfektion nur wenig Vorteile.

Nach der langen Zeit von 6 Monaten kam ich auch nur bei einer einzigen Kultur auf 3 % Salz. Alle anderen gingen, teils durch Bakterien, teils durch massenhaftes Auftreten von Phycochromaceen, namentlich Spirulina vorzeitig zu Grunde. Die Kulturgefässe waren mit Fliesspapier überbunden. In der einen gesund gebliebenen Kultur war das Material (Polysiphonia, Ectocarpus, Melosira) völlig gesund und normal.

Erwähnung möchte ich hier noch eines Kulturgefässes thun, das im Algenzimmer des Institutes gefunden wurde. Dasselbe, welches etwa 4 Liter fasste, war nur noch zu $^1/_{10}$ seines Volums angefüllt. Die Flüssigkeit hatte 6 % Salz, in derselben fanden sich nebst vielen abgestorbenen Zellresten von Polysiphonia ausserordentlich schöne Melosirencolonien. Dieselben fanden sich in Bändern von 90 bis 120 Exemplaren, welche völlig turgescent und gesund waren.

Auch Callithamnium corymbosum, eine der empfindlichsten Rhodophyceen, fand sich in reichlicher Menge und normaler üppiger Vegetation. Der Topf, welcher unbeachtet in einer Ecke des Zimmers stand und zwar im diffusen Tageslichte, war der freiwilligen Verdunstung ausgesetzt gewesen.

Steigerung durch langsames Einfliessen des stärkeren Mediums mittelst Capillare.

Weitere Versuche, das Substrat von Rhodophyceenculturen durch langsames, tropfenweises Einfliessen des 5 % Salzwassers aus einer Capillare zu conzentrieren, führten auch schon in Kurzem eine Schädigung des Materials herbei.

Steigerung durch allmähliches Auflösen von Salz in Substanz.

Um eine Conzentrationserhöhung durch allmähliches Auflösen von käuflichem Kochsalz im Substrate zu be-

wirken, hatte ich auf den Boden des Gefässes einer Rhodophyceen- und Ectocarpuscultur Salz in Substanz geschüttet. Das Pflanzengemenge war durch Glasstäbe künstlich im oberen Teile des Gefässes gehalten. Sehr bald zeigte sich schon die Wirkung des Na Cl durch Auftreten einer violetten Zone um mein Versuchsmaterial. Im Verlauf von 14 Tagen war dasselbe scheinbar völlig abgestorben. Nach vier Monaten stellte sich von neuem eine lebhafte Vegetation von Ectocarpusfäden ein. Dieselben nahmen ihren Ursprung teilweise an den abgestorbenen Pflanzenresten, zum grössten Teil aber an der Gefässwandung. Die Zellen waren völlig normal ausgebildet, turgescent und zeigten keine Verschiedenheiten von den in gewöhnlichem Wasser gewachsenen Exemplaren. Die Conzentration war 4 %.

Letztere Beobachtungen, die ja mit dem Anpassungsvorgang als solchem nichts zu thun haben, sollen darthun, dass völlig normales Wachstum der betreffenden Pflanzen auch auf die Dauer in höheren Conzentrationen möglich ist.

Morfologische Differenzen beim Wachstum in höheren Conzentrationen.

Dass mit der Zunahme der osmotischen Leistung des Substrates auch die Anforderungen an den morphologischen Bau der Pflanzen andere werden, oder auch ihre Lebenserscheinungen sich teilweise anders gestalten, wird nicht auffällig erscheinen. So fand Oltmanns abnorme Wachstumsverhältnisse an Polysiphonia nigrescens[1]). Eschenhagen solche bei Schimmelpilzen, wenn er sie in stärkere Lösungen übertrug[2]); Zacharias desgleichen an Wurzelhaaren[3]). Ich möchte deshalb kurz noch meine Erfahrungen hier anführen.

Fast bei allen meinen Versuchsobjekten stellte sich eine Verdickung der Zellmenbran ein. Dieselbe nahm mit der Höhe des Salzgehaltes im Substrat zu. Am wenigsten trat diese Erscheinung bei Ulva und Enteromorpha zu

[1]) Oltmanns »Ueber die Kultur und Lebensbedingungen d. Meeresalgen« S. 30.

[2]) Eschenhagen »Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Conzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen«.

[3]) Zacharias »Ueber das Wachstum der Zellhaut bei Wurzelhaaren«. Flora 1891, Heft 4.

Tage. Bei letzterer konnte eine Zunahme der Zellmembrandicke erst von der 5 % Conzentration an wahrgenommen werden.

Cladophora und Chaetomorpha zeigten an der Zelle sonderbare Vorstülpungen, welche bei Cladophora indes nicht zu Nebenästen auswuchsen. Die sonst spitz zulaufenden Endzellen der letzten Gattung hatten stumpf abgerundete, keulenförmige Gestalt angenommen und wuchsen nicht weiter. Neuer Zuwachs fand erst später statt durch Seitenäste. Diese waren jedoch abweichend von den alten Zellen, allerdings etwas zarter, sonst aber völlig normal, sie zeigten also keine Membranverdickung oder Vorstülpungen[1]). Die Spirogyren schickten sich sehr bald zur Copulation an, während ich das bei einer Parallelkultur in ursprünglichem Medium wohl vereinzelt, aber nicht in dem Maasse konstatieren konnte. Die Beobachtung Oltmanns an Polysiphonia kann ich bestätigen[2]). Irgend welchen Einfluss der höheren Conzentration auf die Melosiren konnte ich nicht wahrnehmen.

Durch die plötzliche Conzentrationssteigerung d. h. Erhöhung des Aussendruckes wird das Verhältnis des hydrostatischen Druckes der Zelle gegenüber dem Substrat eine Differenz erleiden, und das Wachstum sistiert. In diesem anormalen Zustand der Pflanze, deren nächstes Bestreben es ist, sich den neuen Verhältnissen möglichst schnell anzupassen, entstehen jene oben geschilderten, morphologischen Veränderungen. Sobald nun die Adaption stattgefunden hat und neues Wachstum eintritt, bilden sich diese neuen Zuwüchse wieder völlig normal aus. Es werden also von Gestaltsänderungen bei steigender Conzentration nur die älteren, bereits ausgebildeten oder die noch in der Entwickelung begriffenen Zellen betroffen. Die Richtigkeit dieser Ansicht möchte ich mit dem Verhalten meiner Kulturen begründen. Also nur die Turgorschwankung als solche bildet den störenden Faktor, sobald dieser beseitigt, tritt wieder normale Entwickelung ein.

---

[1]) In den nachträglich plasmolysierten Zellen von Cladophora konnte ich mit Leichtigkeit die Klebschen Membranen nachweisen. Der Versuch, solche Zellen aufs neue zu plasmolysieren, gelang mir nicht.

[2]) Oltmanns „Ueber die Kultur und Lebensbedingungen der Meeresalgen". Seite 30.

Einfluss der Zeit, in welcher sich die Substratssteigerung vollzieht, auf die Regulation.

Es wird nun für die Regulation nicht gleichgültig sein, ob die Zunahme des Salzgehaltes im Substrate eine plötzliche ist (wie solche bei meinen Kulturen durch directes Uebertragen), oder ob dieselbe langsam durch einen allmählichen Uebergang bis zu der betreffenden Conzentrationshöhe während eines bestimmten Zeitraumes geschieht. In der Natur haben wir nur mit letzterem Falle zu thun. Allerdings herrscht in Bezug auf die Zeit, in der sich solche Schwankungen des Salzgehaltes vollziehen, sowie auf die Höhe des letzteren eine grosse Mannigfaltigkeit. Auf dem hohen Meere treten dieselben relativ langsam und in kleinen Salzwerten auf. Für die Nordsee bewegen sich diese Schwankungen im Mittel um 0,1 % innerhalb 24 Stunden. Im Gebiete der Ostsee, also auch meinem speciellen Untersuchungsrevier, dem Unterlauf der Warnow, verlaufen dieselben in weit kürzerer Zeit mit viel höheren Salzwerten.

Meyer fand bei Friedrichsort innerhalb 24 Stunden einen Wechsel von 0,7 %. Oltmanns beobachtete solche von 0,3 % in 9 Stunden bei Warnemünde. Ich selber fand einmal auf der Höhe von Oldendorf innerhalb 5 Stunden einen solchen von 0,4 %.

Auf experimentellem Wege suchte ich daher zu entscheiden, in wie weit die Zeit, während welcher die Steigerung stattfindet, bei der Regulation in Betracht kommt. Als Massstab für eingetretene Regulation diente mir die Turgorbestimmung. Nach später noch zu beweisenden Gründen ist die Regulation nämlich dann als geschehen zu erachten, wenn der Ueberdruck der Zelle gegenüber dem neuen Substrat gleich ist dem Ueberdruck der Zelle zum alten. Der Ueberdruck muss also stets eine konstante Grösse sein. Unter Zugrundelegung dieses Factums ist der Versuch nicht mit Schwierigkeiten verbunden. Als Material diente mir Cladophora, Enteromorpha, Ulva und Melosira, die sich durch Vorversuche besonders geeignet erwiesen. Durch langsames, tropfenweises Einfliessenlassen von starkem conzentrierten Seewasser bez. Salzlösung aus einer Capillare bewirkte ich die Conzentration. Ich leitete den Prozess so, dass mit der Vermehrung des Salzgehaltes der Zufluss ver-

langsamt wurde. Stündlich nahm ich Messungen des Salzgehaltes sowie Turgorbestimmungen vor.

Innerhalb zehn Stunden brachte ich Enteromorpha und Ulva auf 5 % Na Cl, Melosira auf 6,5 % Na Cl. Cladophora in sieben Stunden auf 2,1 % Na Cl. Es entspricht das bei ersteren drei eine Zunahme des hydrostatischen Druckes in den Zellen um 26, 26, 32 Atmosph. innerhalb zehn Stunden. Bei Cladophora in sieben Stunden um 9 Atmosphären. Enteromorpha und Ulva conzentrierte ich ohne Schädigung in zwei Tagen auf 7 % Na Cl = 36,4 Atmosphären.

Direktes Ausfrierenlassen der Kulturen bis zu eintretender Plasmolyse. Rückgang der Plasmolyse.

Ich komme nun zu den Versuchen, bei welchen die Conzentration des Substrates durch direktes Ausfrieren der betr. Kulturen erzielt wurde.

Mehrere Gefässe mit Meeresalgen, (Polysiphonia, Delesseria, Callithamnium), die wiederum zahlreichen Melosirencolonien als Substrat dienten, setzte ich einem Froste von 7 ° aus. Das Material war durch Beschweren mit Glasstäben auf dem Boden des Gefässes gehalten, um das Einfrieren zu verhindern. Nach zehnstündiger Wirkung des Frostes hob ich nach gelindem Antauen den Eiscylinder aus und bestimmte den Salzgehalt in der zurückbleibenden Flüssigkeit. Letztere war in den drei in Arbeit genommenen Kulturen violett gefärbt, von ausgetretenem Zellsaft der Rhodophyceen herrührend. Die mikroskopische Untersuchung ergab den völligen Untergang der Rhodophyceen, während die Melosiren normal und turgescent waren. Der erreichte Salzgehalt war nach dieser zehnstündigen Conzentrationsdauer folgender:

Kultur a) von 1 % auf 4,8 % = 28 Atm.
„ b) „ „ „ 4,2 % = 24 „
„ c) „ „ „ 4,3 % = 25 „

Hierher gehören noch andere Versuche, die ich durch Ausfrieren von Melosiracolonien bis zu eintretender Plasmolyse anstellte. Es kam mir hierbei darauf an, zu beobachten, ob und in welcher Zeit die Plasmolyse zurückging. Wegen der vorgeschrittenen Jahreszeit stand mir der natürliche Frost nicht mehr zur Ver-

fügung, und musste ich daher meine Zuflucht zu Kältemischungen nehmen. Seiner Billigkeit wegen benutzte ich als solche Eis und Kochsalz. Ich verfuhr nun folgendermassen. Den Boden eines Kessels, der reichlich Raum für vier meiner Kulturtöpfe hatte, bedeckte ich mit einer Schicht von 6 cm Sand, in welche ich die mit einer doppelten Lage Fliesspapier überbundenen Gefässe eindrückte, sodass sich das beschwerte Algenmaterial im Niveau des Sandes befand. Die Zwischenräume beschickte ich abwechselnd mit einer Lage feinzerschlagenen Eises und Kochsalz. Nach bereits einer Viertelstunde geht die Eisbildung vor sich und kann durch jeweiliges Nachtragen von Salz und Eis und öfteres Abgiessen der flüssigen Schlampe beliebig lange fortgesetzt werden. In Zeiträumen von je einer Stunde entfernte ich das gebildete Eis und untersuchte das Material unter dem Mikroskop. Bei auftretender Plasmolyse der Melosiren wurde der Prozess unterbrochen. Ich bestimmte sodann die Conzentrationsstärke des Substrates und beobachtete die Zeitdauer des Rückganges der Plasmolyse. Die Resultate zeigt untenstehende Tabelle.

Cultur.	Dauer der Operation bis zu eintretender Plasmolyse.	Conzentrationsstärke.	Rückgang der Plasmolyse nach
1	6 Stunden	4,2 %	4½ Stunden
2	6 „	4,0 %	3½ „
3	5 „	3,9 %	4 „
4	6 „	4,1 %	4 „
5	5½ „	4,1 %	3½ „

Das Regulationsvermögen und die Widerstandsfähigkeit der Melosiren ist gradezu frappierend, so beobachtete ich, dass beim direkten Uebertragen derselben aus dem ursprünglichen Medium (1 % Seewasser) in eine stark plasmolytische Kochsalzlösung von 10 % eine Anpassung von über 70 % der Individuen nach 18 Stunden stattgefunden hatte. Es ist das gleichbedeutend mit einer Heraufschraubung des hydrostatischen Druckes um 52 Atmosphären innerhalb 18 Stunden. Aehnlich verhielten

sich Ulva und Enteromorpha, wenn ich sie aus Brackwasser (0,5 %) in 5 % Seewasser übertrug. Die eingetretene Plasmolyse war nach 48 Stunden bei fast allen Zellen wieder rückgängig geworden. Es handelt sich hier ebenfalls um eine Vermehrung des osmotischen Druckes um 26 Atmosphären.

Alle Experimente, welche ich mit den Rhodophyceen in dieser Weise anstellte, schlugen fehl. Ohne Zweifel ist dieser Umstand auf die grosse Empfindlichkeit des Materials zurückzuführen, denn alle Methoden, welche ich zu Conzentrationszwecken anwandte, entsprechen doch nur sehr wenig den natürlichen Verhältnissen. Auch die des Ausfrierenlassens der Culturen hat den Nachteil, dass die Pflanzen Temperaturen ausgesetzt werden, wie sie ihnen auf dem Meeresgrunde niemals geboten werden.

Plasmolytische Versuche an Rhodophyceen.

Im wesentlichen scheiterten die Versuche jedoch an der scheinbar völligen Unmöglichkeit bei den Rhodophyceen die Höhe des Turgors zu bestimmen, der mir ja, wie ich bereits angab, als Erkennungsmittel diente, ob die Pflanzen sich den neuen Verhältnissen angepasst oder nicht. Schon bei Ectocarpus ist die Turgorbestimmung nicht einfach und führt nur bei schnellem Arbeiten zum Ziele, anderenfalls kommt man zu völlig unsicheren Resultaten. Stets findet hier wie bei den von mir untersuchten Florideen, bei Anwendung plasmolytischer Mittel eine Verquellung der Membran statt.

Eine Abhebung der Plasmas konnte ich nur bei Anwendung sehr starker Lösungen (10 % Na Cl) erzielen; das so behandelte Material ging aber darüber zu Grunde, niemals konnte ich einen Rückgang der Plasmolyse beobachten. Von einer Bestimmung des Grenzwertes konnte nicht die Rede sein. Dieses Verhalten zeigten die Rhodophyceen, nicht nur gegen die gebräuchlichsten, plasmolytischen Reagentien, Kochsalz und Salpeter, sondern auch gegen andere Chemikalien, sowohl anorganischer, wie organischer Natur[1]).

Es ist nun nicht unmöglich, dass bei den Rhodophyceen eine Regulation momentan bei der Uebertragung

[1]) Eigentümlich verhielten sich die Aluminiumsalze (bes. sulf.). Hier war selbst bei gesättigter Lösung kein Verquellen der Membran zu konstatieren. Erst nach längerer Einwirkung fand eine plötzliche Contraction des Plasmas statt.

in ein höheres Medium stattfindet. Es kann das aber nur in Folge einer ausserordentlichen Permeabilität des Plasmas, also einer schnellen Diffusion des neuen Substrates in den Zellsaft geschehen. Plasmolyse kann unter solchen Umständen natürlich nicht eintreten.

Es ist nun aber auch an die Möglichkeit zu denken, dass durch das Verquellen der Membran der Zutritt des stärkeren Substrates zum Plasma verhindert wird, also jeglicher Contact des Protoplasten mit dem Medium aufhört und darin der natürliche, wirksame Schutz der Florideen gegen den Conzentrationswechsel liegt, zumal die Quellung, hervorgerufen durch conzentriertes Seewasser, nicht die Existenz der Pflanzen gefährdet. Es bewies mir das ein Gemenge von Delesserien, Polysiphonien und Callithamnien, das ich für kurze Zeit aus dem 1% in ein 3 % Seewasser gebracht und welches dann geringe Quellung zeigte, beim Zurücksetzen in das ursprüngliche Medium aber seine normale Beschaffenheit wieder annahm.

Verhalten des Ueberdruckes zur Conzentrationssteigerung. Ueberdruckconstante.

Schon oben erwähnte ich, dass mir zur Entscheidung über die stattgefundene Regulation die Turgorbestimmung diente, und dass nur dann von einer Anpassung die Rede sein könnte, wenn der Ueberdruck der Zelle zum neuen, wie zum alten Substrat eine konstante Grösse sei. Mit Ueberdruck bezeichne ich den Ueberschuss osmotischer Druckkräfte in der Zelle, also diejenige Grösse, um welche der hydrostatische Druck in der Zelle (der Innendruck) die osmotische Leistung des Substrates (den Aussendruck) überwiegt. Dieser Ueberschuss osmotischer Druckkräfte kann nur durch solche Stoffe hervorgerufen werden, für die der Protoplast völlig undurchlässig ist, denn anderenfalls müsste sehr bald eine Ausgleichung zwischen Innen- und Aussendruck durch Uebertreten dieser Stoffe aus der Zelle in das Substrat und umgekehrt eintreten. Dieser Ueberdruck in den Zellen ist nun bei den einzelnen Familien ein sehr verschiedener, derselbe bewegte sich bei den von mir untersuchten Algengattungen zwischen 4,1—21,1 Atmosphären (Spirogyra-Ectocarpus).

Die Bestimmung geschah nach der plasmolytischen Methode. Ich bereitete mir durch Auflösen von chemisch reinem Kochsalz in dem betreffenden Wasser, welches

dem zu untersuchenden Material als Substrat diente, meine plasmolytischen Reagentien. Bei Verwendung sich um 0,1 % abstufenden Conzentrationen ging die Operation sehr glatt und schnell vor sich und garantierte eine sichere Beurteilung. Die Untersuchungen wurden unter dem Mikroskop direct ausgeführt. Bei Melosira, Ulva und Enteromorpha mit ihren kleinen Zellen benutzte ich Wasserimmersion. Als Grenzwert diente die Lösung, welche eben Abhebung des Protoplasten bewirkte. Für nachfolgendes Material in seinem natürlichen Substrat (Brackwasser von 0,5 % resp. Seewasser von 1 % Salz) fand ich folgende Werte, die also dem Ueberdruck entsprechen.

Spirogyra	0,7 %	Na Cl =	4,1	Atm.
Cladophora	1,7 %	„ =	9,8	„
Chaetomorpha	3 %	„ =	17,6	„
Enteromorpha	3,1 %	„ =	18,2	„
Ulva	3,2 %	„ =	18,7	„
Melosira	0,8 %	„ =	4,7	„
Ectocarpus	3,6 %	„ =	21,1	„

Eschenhagen[1]) hat nun für Schimmelpilze, Stange für Phanerogamen nachgewiesen, dass der Ueberdruck rascher, als die Conzentration steigt, also keine Proportionalität zwischen Conzentrationssteigerung und Turgorsteigerung besteht.

Nach Eschenhagen plasmolysierten Culturen auf:

1 %	Zucker durch	8,5 %	Na NO_3	
10 %	„	„ 15 %		„
20 %	„	„ 23 %		„
30 %	„	„ 30 %		„

Es würde das bei den Culturen von 1 % Zucker ein Ueberwiegen des Druckes der Zelle zum Substrat um 27,4 Atmosph. gleichbedeutend sein.[2])

Bei der Cultur von:

10 %	Zucker =	53,4	Atm.
20 %	„ =	78,8	„
30 %	„ =	100,2	„

Stange[3]) fand bei Culturen von Lupinus und Phascolus den Wurzelturgor in

---

[1]) Eschenhagen »Ueber d. Einfluss u. s. w.« Seite 25.

[2]) Nach de Vries Tabellen berechnet. Pringsheims Jahrbücher Bd. 14 Seite 537.

[3]) Stange »Beziehungen zwischen Substratconcentration Turgor und Wachstum bei einigen phanerogamen Pflanzen-Botanische Zeitung 1892 Nr. 16—27 Seite 6.

Leitungswasser = 0,25 Aeq. KNO_3
„ + 0,05 Aeq. KNO_3 = 0,35 „
„ + 0,1 Aeq. KNO_3 = 0,45 „

Die Ueberdrucke zum Medium würden sich hiernach folgendermassen stellen. Wurzel in

Leitungswasser = 0,25 Aeq. KNO_3
„ + 0,05 KNO_3 = 0,3 „
„ + 0,1 KNO_3 = 0,35 „

Meine Algen verhielten sich in diesem Punkte wesentlich anders, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

	Ueberdruck in Na Cl % (gelöst in den betreff. Medien).													Schwankungen	Mittelwerte
Stärke d. Medien	0,5	1% 1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	8	9	10	11	12	+ u. —	
Spirogyra	0,7	0,7	0,75																+0,05	0,7
Cladophora	1,7	1,7	1,6	1,7	1,6	1,7	1,6	1,7	1,5										+0,05	
																			−0.15	1,65
Chaetomorpha	3	3	3	2,9	3	2,8	3	3	2,9	3	2,9	3							+0,05	
																			−0,15	2,95
Enteromorpha	3,1	3,2	2,9	3	3	3,1	3	3,1	3,2	3,2	3,1	3	3,2	3	3,1	3	3	2,8	+0,2	
																			−0,1	2,9
Ulva	3,2	3,2	3,1	3,2	3,2	3,1	3	3	3,2	3,1	3,2	3,2	3,1	3,1	3,2	3,2			+0,05	
																			−0,15	3,15
Melosira	0,8	0,8	0,8	0,75	0,8	0,85	0,7	0,8	0,8	0,7	0,85	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8			+0,05	
																			−0,1	0,8
Ectocarpus	3,6	3,6	3,5	3,6	3,5														+0,05	
																			−0,05	3,55

Die Tabelle zeigt, dass von einer Zunahme des Ueberdruckes mit steigender Conzentration, wie das für die Phanerogamen und die Schimmelpilze nach Stange's und Eschenhagen's Untersuchungen der Fall ist, hier nicht die Rede sein kann. Alles untersuchte Material hatte ausnahmslos, unabhängig von der Conzentrationshöhe, stets denselben Ueberdruck. Die Bestimmung desselben fand in der schon angegebenen Weise bei jeder Conzentration durch Auflösen des zur Plasmolyse dienenden Na Cl in derselben statt.

Durch die Tabelle ist die Thatsache der Regulation auf die Druckwirkungen der gebotenen Lösungen bewiesen.

Der Innendruck der Zellen ist stets gleich der Summe osmotischer Kräfte des Aussendruckes und der Ueberdrucksconstante.

Wie kommt nun diese Regulation zu Stande? Es sind zwei in Betracht kommende Möglichkeiten denkbar:

1. Die Anpassung geschieht dadurch, dass die Zelle in Folge der Reizung osmotisch unwirksame Stoffe in solche von osmotischer Leistung auf chemischem Wege umwandelt bezw. durch den Stoffwechsel erzeugt, und auf solche Weise den höheren Druck von Aussen paralysiert.

2. Die Regulation geht in der Weise vor sich, dass der Protoplast für das Substrat durchlässig ist, dasselbe also in den Zellsaft diffundiert.

Regulation durch Umwandlung fester Assimilate in osmotisch wirksame Stoffe.

Die erste Annahme hat nun viele Chancen. Nach den Untersuchungen Eschenhagens bestätigt sie sich für Schimmelpilze, nach denen von Stange für Phanerogamen. Beide haben bei ihren Objekten Ueberregulationen gefunden. Schon dadurch wäre die Annahme einer Anpassung durch blosse Aufnahme des Substrates ausgeschlossen, da ja bei der Ueberregulation der osmotische Druck in der Zelle stärker wächst, als der des Substrats.

Für die Schaffung neuer osmotischer Energiepotentiale durch Lösung bisher in fester Form vorhandener Stoffe kommen vor allem die festen Assimilate in Betracht.

Bei den Chlorophyceen und Florideen würde dies Stärke, bei den Phaeophyceen und Diatomeen fettes Oel sein. Bei der oft sehr grossen Anhäufung der Stärke, die ja durch Fermentation in die osmotisch wirksame Glycose übergeht, würden durch diese Umwandlung recht respectable Drucke erzielt werden können. Wenn nun die Anpassung an höhere Conzentrationen auf der Umwandlung der Assimilate basiert, so wird einerseits die vorhandene Menge derselben bei der Steigerung des Substrates abnehmen müssen, die Assimilate werden à fond perdu aus dem Stoffwechsel ausgeschaltet, andererseits könnte beim gänzlichen Mangel derselben von einer Anpassung überhaupt nicht mehr die Rede sein. Unter Zugrundelegung dieser Prinzipien nahm ich meine Untersuchungen vor.

Die Erkennung der Assimilate ist bei den Chlorophyceen eine leichte, auch die Menge derselben lässt beim Vergleich mit Parallelkulturen unter Zuhülfenahme von Jod eine annähernde Beurtheilung zu. Bei den Florideen spec. Polysiphonia fand ich Stärke nur in den älteren Stammstücken, der jüngere Zuwachs war völlig frei von organisierten Körnchen. Assimilationsprodukte der Diatomeen konnte ich nicht nachweisen. Bei Melosira sowohl, wie bei Navicula liessen sich runde lichtbrechende Gebilde erkennen. Alle Reaktionen auf Oel liessen jedoch im Stich. Weder Osmiumsäure noch Alcanna hatten Einwirkung. Kochen mit Kalilauge, sowie Behandlung mit Aether und Schwefelkohlenstoff liessen die Gebilde nicht verschwinden.

Entfernung der Assimilate durch Aushungern des Materials.

Unter der Voraussetzung, dass die Turgorregulation auf Umwandlung der Assimilate beruht, wird die Menge derselben bei Steigerung des Substrates abnehmen müssen, sofern eine Neubildung durch geeignete Massnahmen verhindert wird. Die äusseren Hauptbedingungen für die Assimilation sind das Vorhandensein von Licht und Kohlensäure. Fehlen beide oder auch nur einer dieser Factoren, so wird nicht nur eine Neubildung von Assimilaten unmöglich, sondern auch die bereits vorhandenen werden durch den Atmungsprozess verbraucht. Man kann diesen Vorgang auch wohl mit Aushungern be-

zeichnen. Mit solchen ausgehungerten Individuen Conzentrationssteigerungen vorzunehmen giebt sicher den rechten Weg an die Frage zu entscheiden, ob die Assimilate wirklich die ihnen zugedachte, wichtige Rolle bei der Regulation spielen. Wenn das der Fall ist, könnte sich das ausgehungerte Material überhaupt nicht an höhere Conzentrationen anpassen.

Ich lasse nun eine Beschreibung der Methoden, welche ich zwecks Aushungerns meines Algenmaterials vornahm, folgen.

Aushungern durch Verdunkelung der Culturen.

Cladophora: Abnahme der Stärke findet langsam aber stetig statt. Nach drei Wochen das Minimum erreicht. Nach vierwöchentlichem Verweilen unter dem Dunkelcylinder erfolgt Absterben.

Chaetomorpha: Nach 8 Tagen zeigen die mit Stärke vollgepfropften Zellen kaum eine merkliche Abnahme. Nach 14 Tagen Minimum. Dann in kurzer Zeit tot.

Spirogyra: Im Lumen nach 8 Tagen Stärke nicht mehr nachzuweisen. Pyrenoide geben bis zum Eingehen der Culturen Stärkereaktion.

Ulva und Enteromorpha hatten nach 14 Tagen nur noch Spuren aufzuweisen.

Polysiphonia zeigte keine Abnahme der Florideenstärke, nach 8 Tagen ging das Material ein.

Aushungern durch Verdunkelung unter gleichzeitiger Wärmeanwendung.

Da die Atmung durch Erhöhung der Temperatur gesteigert werden kann, so versuchte ich durch Anwendung einer constanten Wärme von 28° eine schnellere Abnahme der Stärke herbeizuführen. Leider waren meine Culturen nicht steril. Eine lebhafte, durch die Wärmeanwendung begünstigte Bakterieentwickelung vernichtete meine Algen.

Aushungern im Wasserstoffstrom.

In den beiden beschriebenen Versuchen war eine Neubildung von Assimilaten durch Fernhaltung des Lichtes verhindert. Hier suchte ich durch Abschluss der Kohlensäure, des anderen zur Assimilation nötigen Faktors, eine solche unmöglich zu machen.

Das Kulturgefäss mit den Versuchsobjekten wurde durch einen doppelt durchbohrten Kork luftdicht verschlossen. Die eine Durchbohrung diente der Wasserstoffzuleitung, die andere einem Abzugröhrchen, welches, nach Passieren einer Waschflasche mit Kalilauge, in einer Vorlage mit Wasser endete. Das Gas wurde im Kipp'schen Apparat aus Zink und H_2 SO_4 dargestellt und vor seinem Eintreten in die Cultur von etwa vorhandenen Verunreinigungen befreit. Es geschah das durch Leiten des Gases durch Aetzkali (Beseitigung von CO_2), dann durch eine Lösung von Kaliumpermanganat und zuletzt durch Silbernitrat (Beseitigung von Kohlenwasserstoffen und Arsenwasserstoff). Alle drei Minuten liess ich ein Gasbläschen in die Culturflüssigkeit eintreten. Assimilation der Versuchspflanzen war selbst bei Lichtzutritt unmöglich, da der Zutritt von Kohlensäure auf jede Weise verhindert war. Das Versuchsmaterial zeigte wiederum überall eine beständige Abnahme der Stärke bis zum äussersten Minimum.

Aushungern im Dunkel über Kalilauge.

Diese Methode bezweckte die Fernhaltung sowol des Lichtes, wie der Kohlensäure. Die Resultate waren von denen der anderen Methoden nicht verschieden.

Steigerungsversuche mit ausgehungertem Material.

Mit dem, nach obigen Methoden ausgehungerten aber gesunden Material nahm ich Steigerungsversuche unter Dunkelhaltung vor. Der Vorgang wurde so eingerichtet, dass das stärkere Medium mittelst Capillare den Culturen langsam zugeführt wurde. Das Verhalten der ausgehungerten Algen unterschied sich nun in keiner Weise von nicht ausgehungerten gegen die Conzentrationssteigerung. Alle passten sich an diese Salzhöhe des Medium und in derselben Zeit an, wie die normalen Individuen ihrer Art. Auch der Ueberdruck der Zellen war für die verschiedenen Conzentrationsstärken stets dieselbe Constante.

In gleicher Weise verhielten sich Melosirencolonien, die ich 14 Tage lang dunkel gestellt, deren Abnahme der Assimilate ich leider mikroskopisch nicht feststellen konnte, bei der Steigerung ausnahmslos, wie normale Exemplare. Hierher gehört noch ein weiterer Versuch,

den ich zur Lösung der Frage, ob die festen Assimilate es sind, durch deren Umsetzung die Regulation bedingt wird. Dieser Versuch ist gewissermassen eine Umkehrung des soeben beschriebenen.

Findet eine Rückbildung von Assimilaten statt, wenn gesteigertes Material in niedere Conzentrationen übertragen wird?

Wie ich bereits zeigte, hält mit der Erhöhung des Substrates die Erhöhung des hydrostatischen Druckes in der Zelle gleichen Schritt, sodass der Ueberdruck stets derselbe bleibt. Wenn ich nun normales, gesteigertes Material in ein schwächeres Substrat zurückversetze, so muss entweder eine Ueberregulation stattfinden, oder die überflüssig gewordenen osmotischen Druckkräfte der Zelle müssen beseitigt werden. Bei der angenommenen Undurchlässigkeit des Protoplasten kann eine Beseitigung nur so geschehen, dass wiederum eine Rückbildung dieser überflüssig gewordenen gelösten Stoffe in solche von osmotischer Unwirksamkeit, also in feste Form (Glykose in Stärke) stattfindet.

Die Untersuchungen in dieser Weise ergaben folgende Resultate.

Cladophora:

Aus 3 % Conzentration in solche von 0,5 % Salzgehalt übertragen, (Verminderung des Aussendruckes 9 Atm.) zeigte keine Zunahme fester Assimilate.

Spirogyra:

Aus 2 % in 0,5 % Seewasser. Verminder. des Aussendruckes 5,4 Atm. Keine Zunahme fester Assimilate.

Chaetomorpha:

Aus 4 % in 0,5 % Seewasser. Verminder. des Aussendruckes 12,8 Atm. Keine Zunahme an Assimilaten.

Ulva und Enteromorpha:

Aus 5,5 % in 0,5 % Seewasser. Verminderung des Aussendruckes 18 Atm. Keine Zunahme an Assimilaten.

Polysiphonia und Melosira:

Aus 3 % Conzentration in 1 %. Verminderung des Aussendruckes 7,2 Atm. Keine merkbare Zunahme organisierter Gebilde in den Zellen.

Die Uebertragung aus dem höheren Substrat in das niedere war eine plötzliche. Um ein zuverlässiges Ergebnis zu erhalten, wurde die Operation unter Dunkelhalten der Culturen vorgenommen, wodurch dem Fehler, der durch auftretende neue Assimilationsproducte hätte herbeigeführt werden können, vorgebeugt war. In 4, 6, 12, 24, 2 × 24, 3 × 24 Stunden wurde das Material unter dem Mikroskop geprüft. Die Regulation des Turgors hatte (soweit die Untersuchung darauf möglich war) bei allen Versuchsobjekten nach 6 Stunden stattgefunden.

Der Ueberdruck war also nach dieser Zeit der normale, er hatte die constante Grösse angenommen. Morphologische Veränderungen traten nicht auf. Das Material war frisch und gesund.

Geschieht die Bildung osmotischer Druckkräfte durch Oxydation der Reservestoffe zu Oxalsäure, Apfelsäure, Weinsäure?

Ich habe bei vorigen Versuchen nur auf den Zerfall der Stärke bez. des Oels zu Glykose und Rückbildung letzterer zu den ersteren Stoffen Rücksicht genommen. Es kann jedoch auch in anderer Weise durch chemische Metamorphose der Assimilate eine Vermehrung osmotisch wirksamer Substanz erfolgen. Die anfänglich gebildete Glykose kann bei weiterer Oxydation in Oxalsäure, Apfelsäure, Weinsäure u. s. w. übergehen, Substanzen, die alle einen viel höheren Wert osmotischer Leistung besitzen, als Glykose. Es schien mir deshalb nötig bei der Conzentrationsteigerung auch auf das Auftreten solcher Stoffe Bedacht zu nehmen, zumal es nicht denkbar ist, dass bei Erniedrigung des Aussendruckes so weit vorgeschrittene Oxydationsprodukte eine Rückbildung in die ursprünglichen Assimilate erfahren. Für die Erledigung dieser neuen Frage, ob solche Produkte des Stoffwechsels es sind, die bei der Anpassung an ein höheres Substrat ausgleichend wirken, ist deshalb noch Rücksicht zu nehmen. Es ist das aber nur auf dem Wege einer chemischen Analyse des Zellsaftes möglich. Bei Zellsaftanalysen höherer Pflanzen bestimmte de Vries Glykose durch Titration mit Fehlingscher Lösung, die freie Säure durch Titrieren mit $^1/_{10}$ Normal-Lauge. Die an Pflanzensäuren gebundenen Salze bestimmte er nach der Methode Famintzin, die auf Titrieren der kohlensauren Alkalien und

Erdalkalien in der Asche beruht, in welche die pflanzensauren Salze beim Verbrennen übergehen.[1])

De Vries gewann seinen Zellsaft durch einfaches Auspressen des Materials (z. B. Rhabarberstengel) mit der Handpresse. Diese Methode, auf die hier in Betracht kommenden Algen anzuwenden, erwies sich als ein Ding der Unmöglichkeit. Selbst beim Vorhandensein grosser Mengen des Materials, wie mir solche durch Enteromorpha geboten war, erhielt ich beim directen Pressen keine Ausbeute. Bei der Gleichmässigkeit der Enteromorphen, welche ich für die Dauer, einerseits ihrer leichten Beschaffung, andererseits ihrer hohen Anpassungsfähigkeit wegen ausschliesslich zu meinen Versuchen benutzte, glaube ich keinen grossen Fehler gemacht zu haben, wenn ich nicht erst den Zellsaft isolierte, sondern gleich die ganze Pflanze veraschte. Die so erhaltene Asche enthält ausser den mineralischen Bestandteilen des Zellsaftes allerdings auch noch die des Plasmas, sowie der Zellenmembran. Durch Vergleichsanalysen konnte ich mich indessen überzeugen, dass der beim Veraschen gleicher Gewichte des Materials erhaltene Rückstand nicht nur an Menge derselbe war, sondern auch eine grosse Constanz in seiner quantitativen Zusammensetzung zeigte.

Es handelte sich also darum, nachzuweisen, ob der Gehalt an pflanzensauren Salzen in solchen Pflanzen, welche in einer höheren Conzentration vegetiert, ein grösserer sei, als bei den in normalem Medium wachsenden. Es waren demnach folgende Analysen auszuführen:

1) Die pflanzensauren Salze von Enteromorphen, die in normalem Substrat (0,5 % Salz) gewachsen waren, zu bestimmen.

2) Die pflanzensauren Salze von Enteromorphen in 5 % Seewasser wachsend, zu bestimmen. Ich verfuhr in nachstehender Weise:

Chemische Analyse des Materials auf den Gehalt an Pflanzensäuren.

Das gut ausgelesene Material wurde in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bei 100 % getrocknet,

---

[1]) De Vries. Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Pringsheims Jahrbuch, Band 14.

alsdann im Porzellanmörser zum Pulver zerrieben, gewogen und im Platintiegel verascht. Die Asche glühte ich solange über dem Bunsenbrenner, bis kein Verlust mehr nachzuweisen war, wozu etwa 2 Stunden erforderlich. Die Asche mit dem Tiegel wurde in ein Porzellanschälchen übertragen und mit destiliertem Wasser ausgekocht. Durch Filtrieren und Nachwaschen wurde der wässerige Auszug von der ungelösten Asche getrennt. Der wässerige Auszug, welcher die kohlensauren Alkalien enthält, wurde mit einer bestimmten Menge $^1/_{10}$ normal Salzsäure versetzt und durch Erhitzen die frei gewordene Kohlensäure vertrieben. Durch Zurücktitrieren mit $^1/_{10}$ Kalilauge erhielt ich die Menge der an HCl gebundenen Alkalien. Den in Wasser ungelösten Teil der Asche brachte ich vom durchstochenen Filter in eine Porzellanschale, Tiegel und Filter wurden mit mässig starker Salzsäure ausgewaschen und die Flüssigkeit in die Porzellanschale zu der Asche gethan. Das Ganze wurde zur Vertreibung der überschüssigen HCl auf dem Wasserbade fast bis zur Trockne eingedampft, alsdann mit destiliertem Wasser auf 200 ccm. gebracht. Wenn noch freie Salzsäure vorhanden war, nahm ich eine Correction mit $^1/_{10}$ normal Kali vor bis zur Neutralisation. Die in der Asche vorhanden gewesenen kohlensauren Erdalkalien werden durch die Salzsäure in Chloride übergeführt. Durch die Titration mittelst $^1/_{10}$ Ag NO_3 erfahre ich, abzüglich der Correction, ohne weiteres den Relativ-Gehalt an Kalk und Magnesium, welche an Pflanzensäuren gebunden waren.

Analyse von Enteromorphen aus normalem Substrat (Warnowwasser 0,5 % Salz).

a) Gewicht des in Arbeit genommenen Materials 2,5 gr.
Asche = 0,33 gr.

Wässeriger Auszug der Asche verbrauchte zur Neutralisation 0,15 ccm $^1/_{10}$ HCl.

10 ccm des auf 200 ccm verdünnten salzsauren Auszuges der Asche verbr. 1,95 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3.
(Correction 10 ccm $^1/_{10}$ KOH).

b) Gew. des Materials 3,0 gr.
Asche 0,39 gr.

Wässer. Auszug d. Asche = 0,25 ccm $^1/_{10}$ HCl. 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Auszuges der Asche = 2,1 $^1/_{10}$ Ag NO_3.
(Correction 12 ccm $^1/_{10}$ KOH).

c) Gew. d. Materials 3,5 gr.

Asche 0,49 gr.

Wässer. Auszug der Asche 0,3 1/10 HCl. 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Auszuges = 2,3 1/10 Ag NO_3.

(Correction 20 ccm 1/10 KOH).

d) Gew. d. Materials 4,5 gr.

Asche 0,54 gr.

Wässer. Auszug d. Asche 0,4 ccm 1/10 HCl. 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Auszuges = 2,8 ccm 1/10 Ag NO_3.

(Correction 10,4 ccm 1/10 KOH).

e) Gew. d. Materials 4,5 gr.

Asche 0,53 gr.

Wässer. Auszug der Asche 0,5 ccm 1/10 HCl. 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Auszuges 2,75 1/10 ccm Ag NO_3.

(Correction 12 ccm 1/10 KOH).

f) Gew. d. Materials 4,5 gr.

Asche 0,545 gr.

Wässer. Auszug der Asche 0,35 1/10 HCl. 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Auszuges der Asche 2,4 ccm 1/10 Ag NO_3.

(Correction 15 ccm 1/10 KOH).

Zusammenstellung der Resultate.

Analyse	Trockengewicht des Materials. gr	Asche	Verbrauchte ccm 1/10 HCl zur Neutralisation des wässerigen Ausz. der Asche	Verbrauchte 1/10 $AgNO_3$ für 10 ccm des auf 200 ccm verd. salzsauren Ausz. d. Asche incl. Correct.	Dto für 10 ccm der Verdünnung excl. Correct.
a	2,5	0,33	0,15	1,95	1,45
b	3,0	0,39	0,25	2,1	1,5
c	3,5	0,49	0,3	2,3	1,3
d	4,5	0,54	0,4	2,8	2,3
e	4,5	0,53	0,5	2,75	2,15
f	4,5	0,545	0,35	2,4	1,65

Auf 100 Gramm Trockengewicht des Materials kommen im Mittel 12,5 Asche (Schwankungen über den Mittelwert 1,5 gr, unter den Mittelwert 0,6 gr).

Für 100 Gramm Trockengewicht war die Alcalität des wässerigen Auszuges gleich 7,96 ccm 1/10 HCl.

Der Chlorgehalt des Salzsäureauszuges entsprach nach Abzug der Correction für 100 Gramm Trockengewicht

937,4 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3 = 3,37.

Chlor an Kalk und Magnesium gebunden.

Die Analyse von Enteromorphen aus einem Substrat mit 5 % Salz ergab folgende Resultate:[1])

a) Gewicht des in Arbeit genommenen Materials 3,5 Gramm.

Asche 0,55 gr.

Wässer. Auszug der Asche brauchte 0,25 $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug der Asche (Correction 15 ccm $^1/_{10}$ KOH) auf 200 ccm verdünnt. 10 ccm der Verd. = 2 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3.

b) Gewicht des Materials 4,5 gr.

Asche 0,57 gr.

Wässer. Auszug der Asche = 0,45 $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug: Correction 14 ccm $^1/_{10}$ KOH. Auf 200 ccm verdünnt. 10 ccm d. Verdünn. = 2,9 $^1/_{10}$ Ag NO_3.

c) Gewicht des Materials 5,0 Gramm.

Asche 0,65 gr.

Wässer. Auszug der Asche = 0,45 $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug: Correction 20 ccm KOH. 10 ccm der Verdünn. auf 200 ccm = 2,8 $^1/_{10}$ Ag NO_3.

d) Gewicht des Materials 4,5 Gramm.

Asche 0,59 gr.

Wässer. Auszug der Asche = 0,42 $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug: Correction 14 ccm $^1/_{10}$ KOH 10 ccm der Verdünnung auf 200 ccm. = 2,85 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3.

e) Gewicht des Materials 6 gr.

Asche 0,79 gr.

Wässer. Auszug der Asche = 0,65 ccm $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug der Asche: Correction 8 ccm $^1/_{10}$ KOH. Auf 200 ccm verdünnt. 10 ccm der Verdünnung = 3,4 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3.

f) Gewicht des Materials 5 Gramm.

Asche 0,66 gr.

Wässer. Auszug der Asche 0,40 ccm $^1/_{10}$ HCl. Salzsaurer Auszug d. Asche: Correct. 10 ccm KOH. Auf 200 ccm verdünnt. 10 ccm = 2,6 $^1/_{10}$ Ag NO_3.

[1]) Hierbei habe ich zu bemerken, dass das Material vor dem Trocknen mit destilliertem Wasser flüchtig abgespült wurde, um die adhaerierende Salzlösung zu entfernen.

Zusammenstellung der Resultate.

Analyse	Trocken-gewicht des Materials.	Asche.	Verbrauchte ccm $^1/_{10}$ HCl zur Neutralisation d. wässer. Auszugs der Asche.	Verbrauchte $^1/_{10}$ Ag NO_3 im HCl Auszuge d. Asche incl. Correction für 10 ccm der Verdünnung.	dto. exclusive Correction.
a	3,5	0,55	0,25	2,0	1,25
b	4,5	0,57	0,35	2,9	2,2
c	5,0	0,65	0,6	2,8	1,8
d	4,5	0,59	0,24	2,85	2,15
e	6,0	0,79	0,55	3,4	3,0
f	5,0	0,66	0,35	2,6	2,1

Auf 100 Gramm Trockengewicht des in Arbeit genommenen Materials ergiebt das folgende Mittelwerte: Asche 13,4 Gramm. (Höchste Schwankung über dem Mittelwert + 2,3, niedrigste unter dem Mittelwert — 0,7). Die Alkalität des wässerigen Auszuges war = 9,03 ccm $^1/_{10}$ HCl. Der Chlorgehalt des Salzsäureauszuges entsprach nach Abrechnung der Correction 925,9 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3 = 3,286 Chlor an Kalk und Magnesia gebunden.

Ich stelle nun die Durchschnittswerte der Analyse des normalen, sowie gesteigerten Materials einander gegenüber.

Auf 100 Gr. Trockengewicht.	Asche.	Alcalität des wässerigen Auszuges in ccm $^1/_{10}$ HCl.	Die den an Ca. u. Mg. geb. Pflanzensäuren entsprechende Chlormenge.
Normales Material	12,5	7,96	3,37
Gesteigertes Material	13,4	9,03	3,286

Beim Vergleiche der einzelnen Werte differiert zunächst das Gewicht der Asche um 0,9 Gramm auf 100 Gramm Trockengewicht zu Gunsten des gesteigerten Materials. Der grössere Rückstand mineralischer Be-

standteile ist jedoch nicht auf einen Mehrgehalt kohlensaurer Akalien oder Erdalkalien zurückzuführen, sondern er wird lediglich durch Chlornatrium bedingt, worauf ich noch später zurückkommen werde.

Die Alkalität des wässerigen Auszuges war für 100,0 Trockengewicht bei dem Material aus normalem Medium gleich 7,96 ccm $^1/_{10}$ HCl, für das aus 5% Medium gleich 9,03$^1/_{10}$ HCl. Der Mehrgebrauch von 1,07 ccm $^1/_{10}$ HCl, wie ihn die Analyse für das gesteigerte Material angiebt, entspricht 2,4 Milligramm Natrium. Dass diese Menge an Pflanzensäuren gebunden, nicht genügen dürfte, auf die Zellen von 100 gr Enteromorphen verteilt, in jeder Zelle den hydrostatischen Druck um fast 25 Atmosphären zu erhöhen, liegt auf der Hand. Die den Pflanzensäuren entsprechenden Basen Kalk und Magnesium, welche durch das Veraschen in kohlensaure Salze übergeführt und dann als Chloride bestimmt wurden, fanden sich nicht im gesteigerten, sondern im normalen Material in geringer Menge überwiegend. Nach diesem Befunde ist die Thatsache erwiesen, dass eine Regulation durch vermehrtes Auftreten pflanzensaurer Salze nicht stattfindet.

Bei einem weiteren Versuch, den ich zur Erledigung derselben Frage anstellte, verfuhr ich folgendermassen:

Ein gegebenes Quantum Enteromorphen wurde im Wasserbade bei 100 Grad getrocknet, gepulvert und gewogen. Das Pulver kochte ich wiederholt mit Wasser aus, um auf diese Weise eine wässerige Lösung des Zellsaftes zu erhalten. Die zusammengegossenen Auszüge dampfte ich auf dem Wasserbade zur Trockne ein, veraschte den Rückstand und analysierte in der schon angegebenen Weise. Bei peinlichster Arbeit erhielt ich doch so wenig übereinstimmende Resultate, dass ich diese Methode fallen lassen musste. Auf den Grund der Erscheinung werde ich noch später zurückkommen.

Weitere quantitative Analysen machte ich noch auf Glykose und freie Säuren.

Chemische Analyse des Materials auf Glykose und freie Säuren.

Bei der Bestimmung der Glykose wurde das Material, wie oben bei 100° getrocknet, gepulvert und gewogen. Das Pulver kochte ich wiederholt mit Wasser

aus. Die vereinigten und eingedampften Auszüge versetzte ich mit 10 ccm Fehlingscher Lösung, erhitzte zum Kochen und titrierte mit Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalt zurück. Bei je 5 Gramm in Arbeit genommener Enteromorphen erhielt ich bei 5 Analysen ziemlich übereinstimmende Resultate. Das normale, wie gesteigerte Material hatte im Durchschnitt 110 Milligramm Glykose auf 100 Gramm Trockengewicht. Für die Bestimmung der freien Säure bei den beiden Vergleichsmaterialien konnte ich nicht mehr, wie bisher die Enteromorphen auf dem Wasserbade trocknen, da beim Erhitzen bis zu 100 Grad viele Säuren bereits flüchtig sind. Um diesen Fehler zu vermeiden, ging ich anders zu Werke. Das in Arbeit genommene Material wurde nicht mehr gewogen, sondern gemessen. Diese volumenometrische Methode bestand darin, dass ich das Material in einen graduierten Messcylinder von einem Liter Inhalt that und denselben mit dem Medium bis zur oberen Marke anfüllte. Es ist selbstverständlich, dass die anhaftenden Luftblasen möglichst entfernt wurden. Den ganzen Inhalt brachte ich sodann in eine Schale, las die Enteromorphen aus und befreite sie durch gelindes Zusammendrücken von der anhaftenden Flüssigkeit. Letztere wurde in den Messcylinder zurückgegossen. Das Volumen des Versuchsmaterials ist dann gleich dem Flüssigkeitsvolumen, welches nötig ist den Cylinder wieder bis zur Marke zu füllen.

Für die Untersuchung auf freie Säure nahm ich durchschnittlich etwa 90 ccm Enteromorphen und brachte dieselben in einen Kolben mit destilliertem Wasser. Der Kolben wurde durch einen durchbohrten Kork mit einer langen Glasröhre, die gewissermassen als Rückflusskühler diente, verschlossen und im Wasserbade eine halbe Stunde lang dem Kochen ausgesetzt. Nach dem Abkühlen filtrierte ich ab, wusch den Rückstand aus und brachte das Ganze auf 200 ccm. 30 ccm dieses Filtrats versetzte ich mit 5 ccm $^1/_{10}$ KOH und titrierte mit $^1/_{20}$ HCl zurück. Hierbei wendete ich der grösseren Genauigkeit wegen die Tüpfelanalyse unter Benutzung des sehr empfindlichen Helfenberger Regenspapiers an. Bei Verwendung von 90 ccm Material fand ich im Mittel die Alcalität beim normalen Material = 2,66$^1/_{20}$ normal KOH, beim gesteigerten = 2,63$^1/_{20}$ norm. KOH. Es ist also der Gehalt an freier Säure bei beiden Materialien fast gleich gross.

Ich fasse die Resultate der angestellten Versuche noch einmal kurz zusammen.

Eine Rückbildung fester Assimilate beim Uebertragen gesteigerten Materials in ein schwächeres Medium fand nicht statt. Ein Mehrgehalt pflanzensaurer Salze war im gesteigerten Versuchsobject nicht nachzuweisen; ebenso wenig ein Mehrgehalt an freier Säure und Glykose. Hiernach ist es ausgeschlossen, dass eine Regulation durch Neubildung osmotischer Stoffe aus Assimilaten stattfindet.

Regulation beruht auf die Permeabilität des Protoplasten.

Dieselbe kann demnach nur auf Hineindiffundieren des Substrates in den Zellsaft beruhen.

Für diese Annahme sprechen schon sehr viele Momente, die sich im Laufe meiner Untersuchungen herausstellten. Vor allen Dingen wird die Constanz des Ueberdruckes jetzt sehr leicht erklärlich, wenn man bedenkt, dass bei der Permeabilität des Plasmas für das Medium, der Innendruck stets gleich sein muss der Summe osmotischer Druckkräfte des jedesmaligen Substrates und den für das Plasma undurchlässigen Stoffen, welche den Ueberdruck ausmachen. Der Innendruck setzt sich also aus zwei Componenten zusammen. Der eine derselben bildet stets eine constante Grösse, während der andere, mit dem Substrat wechselnd, gleich diesem ist. Ueberträgt man das Material in höhere Conzentrationen, so tritt eine Gleichgewichtsstörung zwischen Innen- und Aussendruck ein. Es diffundiert Chlornatrium aus dem Aussenmedium in den Zellsaft. Diese Bewegung hört auf, wenn der Gleichgewichtszustand der Flüssigkeiten Aussen und Innen für Na Cl-Gehalt erreicht ist, damit hat auch Regulation stattgefunden. Der den Ueberdruck bewirkende Teil des hydrostatischen Druckes der Zelle bleibt also von der Substratsänderung vollständig unberührt.

Janse[1]) hat die Permeabilität des Protoplasten bei Chaetomorpha, Spirogyra, Curcuma und Tradescantia-

[1]) Janse »Die Permeabilität des Protoplasten« Botanisches Centralblatt Bd. 34.

zellen nachgewiesen. Es gelang ihm direct durch die Diphenylaminreaction das Vorhandensein von Salpeter im Zellsaft des betreffenden Materials zu konstatieren, wenn dasselbe einige Zeit in einer Lösung dieses Salzes zugebracht hatte. Weil er nun bei Anwendung anderer Reagentien wie Chlornatrium, Rohrzucker, Traubenzucker ebenfalls einen Rückgang der Plasmolyse fand, so zieht er aus diesem, dem Salpeter ähnlichen Verhalten einfach den Schluss, dass das Plasma auch für diese Substanzen durchlässig sei, ohne den directen Beweis für diese Annahme zu erbringen.

Die Durchlässigkeit des Protoplasten für Chlornatrium suchte ich, sowohl durch physikalische, als auch chemische Untersuchungsmethoden zu beweisen.

Von der Thatsache ausgehend, dass Chlornatrium zu etwa 33 % in Wasser löslich ist, versuchte ich durch Anwendung stark plasmolytischer Agentien das Wasser des Zellsaftes von Enteromorphen, die ich durch schnelle Steigerung auf eine 12 % Salzkonzentration gebracht, möglichst zu entziehen. Das Na Cl, wenn es in gleicher Stärke im Zellsaft, wie im Medium vorhanden, wird unter diesen Umständen im Zellsaft also teilweise auskrystallisieren und an seiner Krystallform, welche eine höchst charakteristische ist, unter dem Mikroskop zu erkennen sein müssen. Die Versuche in dieser Richtung ergaben indes nicht die gehofften Resultate. Das contrahierte Plasma mit seinen festen Bestandteilen, besonders den Chloroplasten, scheint die Krystalle zu verdecken. Ein etwaiges Herausdiffundieren des Chlornatrium in die plasmolytische Flüssigkeit hatte, wie ich mich durch Controllversuche überzeugen konnte, nicht stattgefunden. Leider ist die Enteromorphazelle bei ihrer Kleinheit recht ungeeignet für diese Untersuchungen. Experimente mit anderen Algen, deren Zellen grösser, scheiterten wieder an dem niederen Conzentrationsgrade der Salzlösung. Es blieb mir somit nur der Weg übrig, durch directe chemische Analyse den Beweis für meine Auffassung zu bringen. Nach drei Methoden stellte ich meine Untersuchungen an.

1) Uebertragen des Materials aus einem starken Salzmedium in ein schwaches von bekanntem Salzgehalt und Bestimmung des durch Austreten von Na Cl aus dem Zellsaft bedingten Mehrgehaltes von Salz im neuen Aussen-Medium.

2) Bestimmung des Chlorgehaltes in der Asche der gesteigerten und der normalen Versuchspflanzen.

3) Bestimmung des Chlorgehaltes im wässerigen Auszuge von normalem und von gesteigertem Material.

Die Versuchspflanzen wurden vor der Operation in einer Cl freien isotonischen Lösung eines anderen Stoffes abgewaschen, um einerseits den anhängenden Teil der Na Cl-Lösung, andererseits das in die Zellwände eingedrungene Salz zu entfernen. Solche isotonische Lösungen bereitete ich mir aus Kali- und Natronsalpeter, schwefelsaurem Natron, Glycerin und Rohrzucker. Die zum Versuch genommene Menge der Enteromorphen wurde nicht nach dem Gewicht, sondern nach dem Volumen bestimmt, indem ich die von demselben verdrängten Kubikcentimeter einer Flüssigkeit mass. Hundert Kubikcentimeter Enteromorphen entsprechen im Durchschnitt etwa 6,6 Gramm Trockengewicht.

Methode I.

Uebertragen des Materials aus 5 % Chlornatriumsubstrat in Leitungswasser.

Aus der 5 % Conzentration wurden die Enteromorphen nach dem Abwaschen in einer isotonischen Lösung von Kalisalpeter oder Natronsalpeter oder Rohrzucker in 100 ccm Leitungswasser übertragen. Der Chlorgehalt des Leitungswassers war für 100 ccm

$$= 1 \text{ ccm } {}^{1}/_{10} \text{ Ag } NO_3$$

In Zeiträumen von 10 Min. 1, 2, 3, 6, 12, 24 Stunden wurde die Zunahme des Cl-gehaltes im Leitungswasser bestimmt. Folgende Zusammenstellung giebt die Resultate von 8 Versuchen.

Isotonische Lösungen z. Abspülen	Angewandtes Material in Kubik Centimet.	Verbrauchte Kubikcentimeter $^{1}/_{10}$ Ag NO_3 nach dem Aufenthalt in 100 ccm Leitungswasser nach							Auf 100 ccm Material verbr. $^{1}/_{10}$ Ag NO_3
		10 M.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	
KNO_3	65	3,5	7,5	9,5	12,0	12,3	12,5	12,5	19
	50	2,5	5,1	7,2	10,1	11,2	12,6	12,6	25
	45	2,0	4,5	6,8	10,1	10,4	10,5	10,5	23
$NaNO_3$	55	3,2	6,2	9	12,1	12,6	12,7	12,7	23
	60	3,3	6,9	9,2	13,1	13,9	14,0	14,0	23
	60	3,4	7,2	10,1	14,5	14,7	15,0	15,0	25
Rohrzucker	70	3,9	7,8	11,2	15,0	15,4	15,5	15,5	22
	65	3,7	7,6	10,0	15,0	15,2	15,6	15,6	24

Auf 100 ccm Material (nach Abzug von 1 ccm $AgNO_3$ f. Leitungswasser) 22 ccm $^{1}/_{10}$ $AgNO_3$ = 0,0781 Chlor = 0,126 Chlornatrium.

Wie uns aus der Tabelle ersichtlich, war schon nach zehn Minuten ein Austritt von Salz aus dem Zellsaft in das Substrat zu konstatieren. Die Zunahme des Salzgehaltes war die ersten drei Stunden hindurch eine sehr schnelle und nahm dann langsam ab. Von der 6. bis zur 12. Stunde betrug sie nur noch Bruchteile eines ccm $^1/_{10}$ Silberlösung. Nach 12 Stunden war überhaupt keine Zunahme des Chlorgehaltes im Substrat mehr nachzuweisen. Der Ueberdruck war der normale.

Hundert Kubikcentimeter oder 6,6 gr Enteromorphen der 5 % Conzentration hatten also zur Herstellung der Gleichgewichtsstörung zwischen Innen- und Aussendruck, verursacht durch das Uebertragen in das osmotisch schwächer wirkende Medium, 0,126 Na Cl an dieses abgegeben.

Methode II.

Bestimmung des Chlorgehaltes in der Asche der gesteigerten und der normalen Versuchspflanzen.

Chlorbestimmung in der Asche von Enteromorphen aus 5 % Na Cl-Cultur.

Nach dem Ausheben von der Culturflüssigkeit wurden die Pflanzen durch Abschwenken möglichst von der anhaftenden Na Cl-Lösung befreit und dann mehrere Male in der chlorfreien, isotonischen Flüssigkeit abgespült. Nach kräftigem Ausdrücken und Abtrocknen mittelst Fliesspapier trocknete ich das Material bei 100° im Wasserbade und veraschte es. Als isotonische Flüssigkeit benutzte ich für diese Methode schwefelsaures Natron. Bei Verwendung von Salpeter erhielt ich höchst ungenaue Resultate; ob dieselben ihren Grund in teilweiser Verflüchtigung des Na Cl durch Verpuffen des Materials mit dem Salpeter haben, muss ich dahingestellt sein lassen. Die Asche wurde mit heissem destillierten Wasser ausgezogen. Der Auszug auf 100 Kubikcentimeter verdünnt und darin der Chlorgehalt durch Titrieren mit $^1/_{10}$ Ag NO_3 bestimmt. Die Resultate waren folgende:

Isotonische Lösung Na_2 SO_4

Enteromorph.	verbrauchten ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3
60 ccm	15 „
65 „	14 „
80 „	21 „
65 „	15 „
70 „	17 „
70 „	16,5 „

Für die Asche von 100 ccm ergiebt das im Mittel 28,38 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3 = 0,0845 Cl und auf Chlornatrium berechnet 0,1215 Gramm.

Isotonische Lösung Rohrzucker

Enteromorph. in ccm.	Verbr. ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3
70	17,5 „
70	15,0 „
60	16,0 „

Die Asche von 100 ccm Algen brauchte im Mittel 24,6 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3 = 0,0873 Chlor auf Chlornatrium berechnet 0,122 Gr.

Chlorbestimmung der Asche von Versuchspflanzen aus normalem Medium (Brackwasser).

Enteromorph. in ccm.	Verbr. ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3
60	1,3
60	1,1
60	1,0
70	1,3
70	1,4
70	1,3
80	1,3
80	1,5

Die Asche von 100 ccm Algen brauchte im Mittel 1,83 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3, welche 0,0064 Chlor bez. 0,015 Chlornatrium entsprechen.

Fasse ich die Resultate der beiden Analysen zusammen, so stehen sich folgende Werte gegenüber:

Die Asche von 100 ccm (circa 6,6 gr) normalen Materials hatte

0,015 Na Cl.

Die Asche von 100 ccm (6,6 gr) gesteigertem Materials dagegen

0,122 Na Cl.

Der Na Cl Gehalt im gesteigerten Medium übertrifft den des normalen Materials also fast um das 8—9 fache.

Methode III.

Bestimmung des Chlorgehaltes im wässerigen Auszuge von normalen und gesteigerten Versuchspflanzen.

Nach der volumenometrischen Bestimmung der Menge wurde das in der isotonischen Lösung abgespülte Material in einen Glaskolben gethan und mit destilliertem Wasser zu wiederholten Malen abgekocht.

Die vereinigten Auszüge wurden zu 500 ccm aufgefüllt und hierin der Chlorgehalt direct bestimmt.

Normales Material.

Enteromorph. in ccm	Abkochung gebrauchte ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3
50	1,1
50	1,0
60	1,2
60	1,0
70	1,2
70	1,4
80	1,6
80	1,6

100 ccm (6,6 gr) der Algen brauchten im Mittel 1,97 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3, welche 0,0069 Chlor bez. 0,0113 Na Cl entsprechen.

Gesteigertes Material aus 5 % Na Cl Substrat.

Die Abkochung von

65 ccm	Enteromorph.	verbr.	15	ccm $^1/_{10}$	Ag No_3
80 „	„	„	19	„	„
70 „	„	„	15	„	„
60 „	„	„	16,5	„	„
70 „	„	„	16	„	„
70 „	„	„	18	„	„

100 ccm der Algen brauchten im Mittel 2,36 ccm $^1/_{10}$ Ag NO_3, welche 0,08 Chlor bez. 0,131 Chlornatrium entsprechen.

Es wurde also im normalen Material

0,0113 Chlornatrium,

im gesteigerten Material

0,131 Chlornatrium

gefunden.

Bei Berechnung der Resultate dieser drei Methoden auf 100 Gramm Trockengewicht des Materials (100 Kubikcentimeter = 6,6 gr) würden sich folgende Werte ergeben:

Methode	Normales Material	Gesteigertes Material
I		1,9 Gr. Na Cl
II	0,225 Gr. Na Cl	1,85 Gr. Na Cl
III	0,171 Gr. Na Cl	1,98 Gr. Na Cl

Mikrochemischer Nachweis von Na Cl im Zellsaft von gesteigerten Na Cl-Kulturen durch Thalliumsulfat.

Diesem quantitativen Nachweis des Na Cl im Zellsaft von Enteromorphen aus höherem Na Cl-Substrat habe ich noch einen qualitativen, mikrochemischen beizufügen.

Derselbe beruht auf der sehr empfindlichen Reaktion des Thalliumsulfats zu Chloriden[1]). Das entstehende Chlorthallium hat eine sehr charakteristische Krystallform, die unter dem Mikroskop kaum zu verkennen ist. Eine 0,5% Lösung des schwefelsauren Thallium, in welches das abgeschwenkte, gesteigerte Algenmaterial direct übertragen wurde, wirkte in der Weise, dass sich bereits nach 10 Minuten unter dem Mikroskop dunkle, sternförmig angeordnete, aus einzelnen Prismen bestehende Krystalldrüsen von Chlorthallium im Innern der Zelle leicht erkennen liessen. Besonders schön gestaltete sich der Versuch bei Verwendung von Chaetomorphen aus 4 % Na Cl-Conzentrationen. In einer Chaetomorphazelle konnte ich bis zu 6 solche Krystalldrüsen zählen.

Aus allen diesen Versuchen ist zur Genüge ersichtlich, dass eine Aufnahme von Chlornatrium aus dem Substrat stattfindet, dass also der Protoplast für Chlornatrium intrameabel ist. Janse stellt nun allgemein den Satz auf, dass der intrameable Protoplast nicht zugleich extrameabel ist für dieselbe Substanz[2]). Er zieht diesen Schluss aus dem Verhalten von Salpeter, welcher von Spirogyrazellen aufgenommen, beim Uebertragen desselben in ein osmotisch schwächer wirkendes Medium nicht wieder austrat. Diesen Versuch habe ich nicht wiederholt und mag die Annahme für Salpeter bei Spirogyra vielleicht geltend sein, für Chlornatrium trifft sie indes nicht zu. Chlornatrium ist bei den von mir untersuchten Algen in gleicher Weise intra- wie extrameabel.

Dieser Umstand erklärt daher die Thatsache der Regulation der Algen bei Substratsänderungen in höchst einfacher Weise.

Mit der Erhöhung oder Erniedrigung des Aussendruckes durch Steigen bezw. Fallen des Salzgehaltes im

[1]) Schimper. Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grünen Pflanzen. Flora Bd. 48. 1890.

[2]) Janse J. M. Die Permeabilität des Protoplasma (Botanisches Centralblatt Band 34, Seite 13).

Substrat hält auch der hydrostatische Druck in der Zelle gleichen Schritt durch jedesmaliges Hinein- oder Herausdiffundieren des Salzes bis zur Erreichung des jeweiligen Gleichgewichtszustandes. Der Innendruck setzt sich also, wie ich bereits erwähnt, aus zwei verschiedenen Conponenten zusammen; einmal dem jedesmaligen Substrat, für welches das Plasma sowol intra- wie extrameabel ist, sodann aus den nicht extrameablen Stoffen, welche den stets konstanten Ueberdruck bedingen.

Das dem Chlornatrium anologe Verhalten von Bromkalium.

Diese Eigenschaft der Algen trifft nun nicht allein dann zu, wenn der osmotisch wirkende Faktor des Substrates Chlornatrium ist, auch an einem anderen Salze, nämlich Bromkalium konnte ich ein dem Chlornatrium analoges Verhalten nachweisen. Enteromorphen aus normalem Medium liessen sich in gleicher Weise und mit gleicher Leichtigkeit, wie ich das für Chlornatrium beschrieben, auf eine 4 % Kbr haltende Conzentration steigern. Der Ueberdruck war auch hier bei allen Conzentrationsstärken stets derselbe. Etwa 20 ccm Enteromorphen aus dem 4 % Kbr Substrat wurden nach dem Abspülen in einer isotonischen Na Cl-Lösung verascht. Die Asche nahm ich mit destilliertem Wasser auf, versetzte den Auszug mit Chlorwasser und schüttelte mit Chloroform. Nach dem Absetzen hatte das Chloroform eine tiefbraune Farbe von gelöstem Brom angenommen. Ein Vergleichsversuch mit normalem Material ergab so gut als keine Färbung des Chloroform. Somit war auch hier durch die Analyse ein Hineindiffundieren des Kbr in den Zellsaft nachgewiesen. Wurde das Material aus dem 4 % Kbr haltenden Substrat nach dem Abspülen in einer isotonischen Lösung in ein schwächeres Medium versetzt, so liess sich sehr bald eine Zunahme von Kbr im umgebenden Medium nachweisen.

Dasselbe war aus dem Zellsaft zur Herstellung des Gleichgewichtszustandes in das Substrat herausdiffundiert.

Das Verhalten war also vollständig gleich dem gegenüber Chlornatrium. Wie für Na Cl, so war der Protoplast der untersuchten Algen auch für Kbr sowohl intra- wie extrameabel.

Durch welche Stoffe wird der Ueberdruck bestimmt?

Dieses Verhalten von Chlornatrium und Bromkalium führt nun leicht zu der Annahme, dass sich alle löslichen Stoffe intra- wie extrameabel für den Protoplasten zeigen. Dies ist aber schon deshalb nicht gerechtfertigt, als dann von Turgor oder Ueberdruck der Zellen bei den in Flüssigkeiten lebenden Pflanzen gar nicht die Rede sein könnte. Bei angenommener Extrameabilität der Protoplasten für alle löslichen Stoffe, würden die im Ueberschuss in der Zelle auftretenden osmotisch wirkenden Substanzen in das umgebende Medium diffundieren, und müsste schliesslich somit eine völlige Ausgleichung zwischen Innen- und Aussendruck eintreten. Thatsächlich widerspricht das aber den natürlichen Verhältnissen, da alle in flüssigen Medien lebenden Pflanzen einen Ueberdruck besitzen und dieser Ueberdruck kann nur durch nicht extrameable Substanzen bewirkt werden.

Ich suchte daher auch der Frage nahe zu treten, welches sind diese nicht extrameablen Substanzen im Zellsaft. Leider bin ich hiermit nicht zu einem positiven Resultate gekommen. Immerhin will ich meine, wenn auch vergeblichen Versuche beschreiben. Wenn man bedenkt, dass die Stoffe, welche in den Ulva-Enteromorpha-Chaetomorphazellen den Ueberdruck ausmachen, isotonisch sind mit einer 2,5—3,2 % Kochsalzlösung, so ist anzunehmen, dass dieselben ziemlich reichlich im Zellsaft vorkommen müssen, sodass die Erwartung, ihrer bei einer Analyse des Zellsaftes habhaft zu werden, durchaus nicht aussichtslos erscheint. Die Bereitung von Zellsaft durch directes Pressen des Materials ist bei den in Betracht kommenden Algen, wie ich bereits ausführte, ein Ding der Unmöglichkeit Ich ging deshalb in folgender Weise vor. Die sauber gesichteten, häufig abgespülten Enteromorphen wurden nach der schon beschriebenen, volumenometrischen Methode gemessen. In zwei Hälften geteilt, tötete ich die eine durch Wasserdampf, den ich drei Stunden wirken liess, die andere durch 48 stündige Wirkung von Schwefelkohlenstoffdämpfen. Das so getötete Material wurde unter Zusatz von destilliertem Wasser im Porzellanmörser zerstampft und unter die Presse gebracht. Den von neuem mit Wasser angeriebenen Presskuchen presste ich wiederum aus und wiederholte die Operation noch zum dritten

Mal. Die erhaltene schmutzig graugrüne Flüssigkeit dampfte ich nach dem Filtrieren auf dem Wasserbade bis zur Syrupdicke ein.

Die anorganische Untersuchung dieser Flüssigkeit ergab das Vorhandensein von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium; von Säuren konnte ich nachweisen Chlorwasserstoffsäure, Phosphorsäure und beide überwiegend Schwefelsäure.

Von organischen Stoffen fanden sich Gerbsäure, sehr geringe Mengen eines Fehling'sche Lösung reduzierenden Körpers, Pflanzensäuren, deren specielle Art ich bei nur geringem Mengenverhältnis nicht bestimmen konnte. Den Hauptbestandteil machte indes ein Colloid aus, dasselbe liess sich leicht mit Alkohol ausfällen. Alle Colloide, wie Gummi und Schleim erzielen einen relativ kleinen osmotischen Druck und ist kaum anzunehmen, dass dieser Körper den Ueberdruck ausmacht. Durch Controllversuche konnte ich feststellen, dass dieses Colloid sicher nicht aus dem Zellsaft allein stammte, sondern, dass es ein Umwandlungsprodukt der Membran war. Ohne zu positiven Resultaten gekommen zu sein, musste ich meine Untersuchungen in dieser Richtung fallen lassen, da mir wegen vorgeschrittener Jahreszeit kein Material mehr zur Verfügung stand.

Verhalten von Vicia Faba Keimlingen in Na Cl, KNO_3, Kbr. und KJ. Substraten.

Das leichte Anpassungsvermögen von Algen, wie ich solches durch meine Versuche konstatirt, veranlasste mich auch das Verhalten von Phanerogamen (spec. Vicia Faba) beim Wachstum in verschiedenartigsten Substraten zu beobachten.

Als Substrate benutze ich Salpeter, Jodkalium, Bromkalium, Kochsalz, welche ich in Mengen von 0,05 Aeq. in Leitungswasser gelöst hatte. Die Culturen führte ich unter gleichen äusseren Bedingungen, Luft, Licht und Temperaturen aus. Die Wurzelzuwüchse in gleichen Zeiten dienten mir als Norm für die Beurteilung. Angestellte Parallelkulturen in Leitungswasser liessen Abweichungen leicht erkennen. In jedes der angegebenen Substrate brachte ich dreissig Bohnenkeimlinge und verzeichnete die täglich gemessenen Zuwächse fünf Tage hindurch. In allen Substraten, ausgenommen das Jod-

kalium haltende, entwickelten sich die Culturen durchaus normal. Die Jodkaliumculturen zeigten nur noch drei Tage hindurch kleine, unregelmässige Zuwüchse, sodann gingen sie unter Schwärzung aller Organe ein. Folgende Tabelle erläutert das Verhalten der anderen Kulturen.

	Zuwüchse der Wurzel in Centimetern (Mittelwerte von je 30 Exemplaren.)			
	Leitungswasser	Salpeter	Chlornatrium	Bromkalium
1. Tag	1,08	1,08	1,22	1,17
2. Tag	1,28	1,27	1,28	1,25
3. Tag	1,33	1,3	1,31	1,25
4. Tag	1,41	1,4	1,27	1,30
5. Tag	1,34	1,52	1,43	1,21
Gesamtzuwachs	6,44	6,57	6,51	6,18

Aus der Zusammenstellung ersieht man, dass die Medien von höherem osmotischem Wert keinen wesentlichen Einfluss auf das Wachstum der Wurzel ausübten. Auch der Gehalt von 0,1 Aequivalent dieser Salze im Medium ergab kein anderes Resultat; es trat auch hier weder eine Beschleunigung noch Verlangsamung des Wurzelwachstums ein. Das Wachstum der Wurzel in diesen höheren Substraten bedingt auch eine Steigerung des osmotischen Druckes innerhalb der Zelle. Diese Vermehrung osmotischer Druckkräfte ist im wesentlichen ebenfalls auf die Aufnahme der Stoffe aus dem Substrat zurückzuführen. Schon Knop hat nachgewiesen, dass die Pflanzen Substanzen aus dem Substrat aufnehmen, die nicht unbedingt zu ihrer Ernährung nötig sind. Auch Stange wies bei vielen Phanerogamen die Aufnahme grösserer Mengen Chlornatrium oder Salpeter aus dem Substrate nach. Durch quantitative Analysen meiner Chlornatriumculturen konnte ich diese Thatsache bestätigen, und zwar fand sich das Na Cl nicht nur in der Wurzel meiner Bohnenkeimlinge, sondern auch im Spross.

Die Resultate der Untersuchungen mögen dies veranschaulichen.

Quantitativer Nachweis von Na Cl in den Wurzeln und Sprossen von Vicia Faba aus Kochsalzculturen und solchen aus Leitungswasserculturen.

Ein bestimmtes Quantum Nebenwurzel der Na Cl-Culturen wurde nach dem Abspülen in einer isotonischen Salpeterlösung gequetscht, mit Wasser aufgenommen, und darin der Cl-Gehalt titrimetrisch bestimmt. Auf 100 Gramm der Wurzel (Frischgewicht) fand ich im Mittel 0,117 Chlor = 0,192 Na Cl.

Der Chlorgehalt in den Sprossen war ein weit grösserer; auf 100 Gramm Frischgewicht fand ich im Mittel 0,289 gr Cl = 0,481 Na Cl. Für das normale in Leitungswasser gewachsene Material waren diese Werte folgende: 100 Gramm der Wurzel (Frischgewicht) enthielten 0,0229 Cl = 0,037 Na Cl 100 Gramm der Sprosse (Frischgewicht) 0,0774 Cl = 0,127 Na Cl.

Das Medium, in welchem die Kochsalzculturen gewachsen, enthielt 0,1 Aeq. Na Cl. (0,585 %). Die Pflanzen hatten etwa 8 Tage in demselben verweilt.

Der bedeutende Mehrgehalt an Salz in den Sprossen findet wohl seinen Grund in der Transpiration der Pflanzen. Das durch die Wurzel aufgenommene Medium mit dem Na Cl wird in die oberirdischen Pflanzenteile befördert. Hier findet Wasserverlust durch Verdunsten statt, während das darin gelöste Salz zurückbleibt, also gespeichert wird. Es ist daher anzunehmen, dass bei längerem Verweilen der Pflanzen in dem Salzmedium der Gehalt derselben an Na Cl stetig zunehmen wird.

Schluss.

Zusammenstellung der Ergebnisse meiner Untersuchungen.

Die auf dem Wege der successiven Steigerung erreichten Wachstumsgrenzconzentrationen waren namentlich bei Ulva, Enteromorpha und Melosira wider Erwarten hohe. Mit Leichtigkeit lassen sich diese Pflanzen monatelang in osmotisch hochwertigen Conzentrationen cultivieren.

Von den Culturflüssigkeiten erwiesen sich als die besten diejenigen, welche aus dem durch Ausfrieren gewonnenen stärkeren Seewasser, durch Vermischen des-

selben mit dem wieder aufgethauten Eise zu der betreffenden Salzstärke, hergestellt waren.

Die während der Steigerung an den Algen eintretenden morfologischen Differenzen beziehen sich nur auf die alten oder noch in Entwickelung begriffenen Organe. Alle neuen Zuwüchse in dem höheren Substrat sind wieder normal. Die Anpassung geht sehr schnell vor sich. Sie lässt sich an einzelnen Gattungen (Ectocarpus, Melosira) bei schon eingetretener Plasmolyse durch Rückgang derselben direct unter dem Mikroskop verfolgen. Rhodophyceen ohne Schädigung zu plasmolysieren gelang mir nicht.

Die Annahme, dass die Regulation durch Umwandlung von osmotisch unwirksamen Stoffen der Zelle in solche von osmotischer Wirksamkeit stattfindet, ist zu verwerfen. Die Beweise dafür fand ich im folgenden:

1) Unter der Voraussetzung, dass die Reservestoffe bei einer Umwandlung in osmotisch wirksame Substanzen wesentlich in Betracht kommen, wurden diese durch Aushungern bis zu einem Minimum zum Verschwinden gebracht. In solcher Weise behandeltes Material liess sich aber in gleicher Weise steigern, wie nicht ausgehungertes.

2) Eine Rückbildung von Assimilaten resp. Reservestoffen findet nicht statt, wenn gesteigertes Material in niedere Conzentrationen übertragen wird, denn dies müsste ja unter der obigen Voraussetzung bei der Regulation nach unten stattfinden.

3) Auf chemischem Wege liess sich ein Mehrgehalt von Glykosen, freien Säuren und pflanzensauren Salzen im gesteigerten Material nicht nachweisen.

Die Regulation erfolgt parallel der Steigerung im Aussenmedium: Ueber- oder Unterregulation findet nicht statt. Die Regulation beruht somit nicht auf der Neuschaffung resp. Zerstörung osmotischer Potentiale im Zellsaft, sondern auf einem einfachen Diffusionsvorgang bei gestörtem Gleichgewicht im Salzgehalt des Mediums und des Zellsaftes.

Durch makro- und mikrochemische Untersuchungen wurde der Beweis des äquivalenten Vorkommens von Na Cl im gesteigerten Material erbracht.

Der eigene Ueberdruck der Zellen ist unabhängig vom Substrat stets derselbe. (Ueberdruckskonstante).

Der jedesmalige Druck der Zelle besteht somit aus zwei Componenten, von denen die eine im Gleichgewicht steht mit dem molekularen Druck des jeweiligen Substrates, während die andere gleich ist dem osmotischen Druck derjenigen Zellbestandteile, für welche der Protoplast eine impermeable Wand darstellt; die Natur dieser Stoffe konnte leider nicht festgestellt werden.

Bei Enteromorphenculturen lässt sich das Na Cl zum Teil durch Bromkalium ersetzen, welches gleichfalls intra- wie extrameabel ist.

Nachtrag.

Nach dem Niederschreiben dieser Arbeit erhielt ich ein neueres Werk Fischer's

»Untersuchungen über Bakterien«[1]).

Dasselbe ist für meine Untersuchungen insofern interessant, als auch Fischer bei Bakterien zu denselben Resultaten kam, wie ich sie bei den von mir untersuchten Algen hatte. Fischer fand, dass das Anpassungsvermögen der Bakterien lediglich auf einen einfachen Diffusionsvorgang zurückzuführen ist.

[1]) Pringheims Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik Bd. XXVII Heft 1.

Zusammenstellung der benutzten Litteratur.

Berichte der Commission zur Erforschung der deutschen Meere in Kiel Jahrg. I—XVII

Eschenhagen »Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Conzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen«.

Fischer »Untersuchungen über Bakterien«.

Hegler »Ueber den Einfluss des mechanischen Zugs auf das Wachstum der Pflanze«.

Janse »Ueber Permeabilität des Plasmas«.

Oltmanns »Ueber die Kultur und Lebensbedingungen der Meeresalgen«.

Pfeffer »Osmotische Untersuchungen«.

„ » Pflanzenphysiologie«.

„ »Energetik der Pflanze«.

„ »Zur Kenntnis des Plasmahaut und der Vacuolen«.

Porter »Abhängigkeit der Breitlings- u. Unterwarnow-Flora vom Wechsel des Salzgehaltes«.

Stahl »Einige Versuche über Transpiration und Assimilation«.

Stange »Beziehungen zwischen Substratconzentration, Turgor und Wachstum bei einigen phanerogamen Pflanzen.

Wieler »Plasmolytische Versuche an unverletzten Pflanzen«.

De Vries »Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft«.

Vorliegende Arbeit wurde vom August 1893 bis zum Januar 1895 im botanischen Institut der Universität Rostock angefertigt. Für die gütige Unterstützung, die Ratschläge und das grosse Entgegenkommen, welches ich dabei von meinen Lehrern Herrn Prof. Dr. Falkenberg, sowie Herrn Dr. Hegler erhielt, spreche ich denselben an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.